Lane Medical Library

QUANTITATIEVE UROBILINEBEPALING EN BLOEDAFBRAAK

A. LICHTENSTEIN

QUANTITATIEVE UROBILINEBEPALING EN BLOEDAFBRAAK

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. R. C. BOER, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA DER UNIVERSITEIT OP WOENSDAG 21 MEI 1924, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR, DOOR

ABRAHAM LICHTENSTEIN
GEBOREN TE GRONINGEN

UNIVERSITEITS-BOEKHANDEL, GRIMBURGWAL 11 { AMSTERDAM
KOLONIALE BOEK-CENTRALE, O. Z. ACHTERBURGWAL 175 {

Aan de nagedachtenis mijner Ouders.
Aan mijne Vrouw.

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/quantitatieveuro0000alic

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid U, hoogleeraren en oud-lector der natuurphilosophische en der medische faculteit te Groningen mijn hartelijken dank te betuigen voor het vele, dat ik in mijn studententijd van U heb mogen leeren. Die dank geldt in het bizonder U, Hooggeleerde H ij m a n s v a n d e n B e r g h, die door Uw bezielend onderwijs bij mij de liefde voor de inwendige geneeskunde wist te wekken en daardoor grooten invloed hebt gehad op mijn medische ontwikkeling.

Hooggeleerde R u i t i n g a; hoe zal ik U ooit genoeg kunnen danken voor de hartelijke gastvrijheid, waarmee gij mij op Uw kliniek hebt ontvangen en voor het vele, dat ik in dit jaar van U heb mogen leeren. Dat gij mijn promotor hebt willen zijn, verheugt mij meer, dan ik U met woorden zeggen kan.

Zeergeleerde K e r s b e r g e n; voor het vertrouwen, dat gij eens in mij, den jongen officier van gezondheid, stelde door mij te benoemen tot leeraar in de tropenpathologie aan den cursus voor officieren van gezondheid, blijf ik U steeds dankbaar.

Zeergeleerde B r u g; de jaren, die ik als laborant met U als directeur aan het Centraal Militair Geneeskundig Laboratorium te Weltevreden heb doorgebracht, zullen mij steeds onvergetelijk zijn. Onder Uw leiding daar te hebben mogen werken en te kunnen profiteeren van Uw groote kennis en streng wetenschappelijken zin, heb ik steeds als een groot voorrecht beschouwd. Aanvaard mijn dank niet alleen voor wat ik van U geleerd heb en voor de groote belangstelling, die ge steeds voor mijn werk hebt gehad, maar ook voor alles wat ge in die jaren voor mij geweest zijt.

Aan de voortreffelijke samenwerking, die er bestond tusschen U, Zeergeleerde K o r t h o f en Zeergeleerde D e n H e i j e r, en mij, denk ik nog steeds vol vreugde.

Zeergeleerde V a n G u l i k en Zeergeleerde A r e n d s; voor den grooten steun, dien gij, als directeuren van het

Militair Hospitaal te Weltevreden, mij steeds verleend hebt, breng ik U mijn oprechten dank.

U, directeur en leeraren van de school tot opleiding van Indische Artsen te Weltevreden, dank ik gaarne voor de aangename samenwerking gedurende de jaren, dat ik aan deze school verbonden was.

Zeergeleerde T e r w e n; de bewerking van dit proefschrift heeft ons veel samengebracht en daarbij heb ik grooten eerbied gekregen voor Uw rijke kennis der klinische onderzoekingsmethoden. Voor de vele hulp en steun, die ik van U op het laboratorium heb ondervonden, betuig ik U mijn besten dank.

Tevens betuig ik mijn dank aan allen, die mij ter wille zijn geweest bij de bewerking van dit proefschrift, zeer in het bizonder aan de assistenten der interne kliniek.

INHOUD

Bladz.

INLEIDING.

HOOFDSTUK I.
Urobiline en Urobilinogeen 4

HOODSTUK II.
Het onstaan der Urobiline 13

HOOFDSTUK III.
Quantitatieve Urobiline bepalingen 23

HOODSTUK IV.
De Colorimetrische Urobilinogeenbepaling van Terwen 37

HOOFDSTUK V.
Het verband tusschen Urobilinevorming en bloedafbraak 55

HOOFDSTUK VI.
De toepassing der quantitatieve Urobilinogeenbepaling in de kliniek 67
A. Haemolytische Icterus (verkregen vorm) . . . 71
B. Pernicieuse anaemie 81
C. Myelogene leukaemie 108
D. Cirrhosis hepatis 117

SAMENVATTING.

LITTERATUUR.

INLEIDING.

Sedert Jaffé in 1868 de urobiline ontdekte, boeit deze kleurstof, die normaal in de gal en faeces, en slechts spoorsgewijs in de urine voorkomt, de aandacht der clinici. Daarom blijft steeds hun aandacht op deze stof gevestigd, omdat onder pathologische omstandigheden die hoeveelheid urobiline in meerdere of mindere mate kan toenemen. Het behoeft ons dan ook niet te verwonderen, dat vele tijdschriftartikelen en dissertaties, die over dit onderwerp handelen, in den loop der jaren zijn verschenen.

Steensma heeft in 1918 in een academisch proefschrift onze toenmalige kennis over de urobiline en de urobilinurie bij den mensch, gegrondvest door klinische waarneming en experimenteel onderzoek, aangevuld door eigen arbeid op dit gebied, nog eens samengevat; voor onze plantenetende huisdieren is dit in 1923 gedaan door J. A. Beyers.

Natuurlijk kwam weldra de wensch boven deze stof ook quantitatief te kunnen bepalen. Het is immers niet voldoende, dat men spreken kan van een zwakke of sterke reactie; om te weten, hoe zwak of hoe sterk zoo'n reactie is, is de eenig juiste methode, dat men in grammen probeert uit te drukken, hoe groot de uitscheiding is. Vooral bij ziekelijke toestanden, waarbij de urobiline-uitscheiding vermeerderd is, zal dit van belang kunnen zijn. Saillet heeft in 1897 een methode aangegeven voor de quantitatieve urobilinebepaling, die zich vele jaren heeft gehandhaafd, 't zij dan al of niet gewijzigd door hen, die haar gebruikten; ook nog voor dezen tijd geldt dit. Zoo heeft onze landgenoot Ladage met een gewijzigde methode Saillet uitvoerige quantitatieve urobilinebepalingen gedaan. In principe berust de methode daarop, dat men alle

urobilinogeen, de voortrap van de urobiline en de vorm, waarin ze in hoofdzaak met de urine en de faeces wordt uitgescheiden, omzet in urobiline, deze dan extraheert met behulp van een oplosmiddel en haar dan vergelijkt met een urobiline-oplossing van bekende sterkte, spectroscopisch of spectro-fotometrisch. Zooals we later nog zullen zien, wanneer de quantitatieve methoden uitvoeriger besproken zullen worden, is de spectroscopische vergelijking onnauwkeurig en vereischt buitengewone voorzorgen; voor de spectrofotometrische bepaling is een zeer duur toestel noodig.

Zal een methode in de kliniek ingang vinden, dan is het noodig, dat ze betrekkelijk eenvoudig in haar uitvoering en toch nauwkeurig is en dat de bepaling kan geschieden met de hulpmiddelen, waarover tegenwoordig elk klinisch laboratorium beschikt. Van deze vooropstelling uitgaande, is door A. J. L. Terwen een methode bedacht, die niet berust op het principe van Saillet, maar van Charnas, die niet alle urobilinogeen omzet in urobiline, doch zorgt, dat zich geen urobiline vormen kan.

Dat urobilinogeen wordt gebonden aan het reagens van Ehrlich, het paradimethylamidobenzaldehyd, en daardoor roodgekleurd en dit roode product spectrofotometrisch gemeten. Terwen nu bepaalt het gehalte aan urobilinogeen langs colorimetrischen weg en heeft tevens een methode gevonden om in urine en faeces gevormde urobiline in urobilinogeen terug te voeren.

Deze methode in de kliniek toe te passen en haar bruikbaarheid te toetsen is een der doeleinden van dit proefschrift.

Gewapend met een goede en eenvoudige methode voor quantitatieve urobilinebepaling zal men de hoeveelheid uitgescheiden urobiline per dag gemakkelijk kunnen meten. Vooral in die gevallen waarbij we weten, dat er een vermeerderde urobiline-vorming is, zal ze ons goede diensten kunnen bewijzen. Daar waar een verhoogde bloedafbraak is, waar vele roode bloedlichaampjes verwoest worden, ziet men veelal een urobilinurie optreden.

Doch ook in de faeces is in die gevallen b.v. bij haemolytischen icterus, bij pernicieuse anaemie, de hoeveelheid urobiline aanzienlijk vermeerderd. We weten sinds lang, dat de urobiline in den darm ontstaat uit de bilirubine onder in-

vloed van bacteriënwerking; we weten eveneens, dat de bilirubine ontstaat uit de bloedkleurstof, die de lever wordt toegevoerd en afkomstig is van de erythrocyten, die in de milt ten ondergaan. Geven we ons er nu verder rekenschap van, dat het bekend is hoeveel haemoglobine het bloed bevat en dat we de chemische samenstelling zoowel van de bilirubine als van het urobilinogeen kennen, dan ligt het voor de hand, dat we uit de hoeveelheid uitgescheiden urobiline kunnen bepalen, hoeveel bloed in de milt is ten ondergegaan. De quantitatieve urobilinebepalingen kunnen ons dus een inzicht verschaffen in de intensiteit, waarmee bij een bepaalde ziekte het bloed afgebroken wordt. Letten we dan nog verder op de morphologie van het roode bloed, op de veranderingen, die aan de chromocyten te zien zijn en brengen we die in verband met de gevonden uitgescheiden urobilinewaarden, dan zal zich ons inzicht over hetgeen zich bij een zieke in beenmerg en milt afspeelt, zeer verdiepen en verbreeden.

Deze bloedafbraak bij eenige ziekten na te gaan is het tweede doel van dit werk geweest, waarvan de resultaten in de nog volgende bladzijden zijn neergelegd.

HOOFDSTUK I.

Urobiline en Urobilinogeen.

Het is slechts volledigheidshalve, dat in dit proefschrift over de eigenschappen van deze beide stoffen zal worden gesproken. Het is alleen een samenvatting van hetgeen wij op dit oogenblik van hen weten. Wie dieper op de chemie ervan wil ingaan, leze het proefschrift van T e r w e n. De moeilijkheid bij de studie van de urobiline zit daarin voornamelijk, dat het tot nu toe nog niet gelukt is deze kleurstof in kristalvorm te verkrijgen. Het is een amorph poeder, dat bruinachtig rood gekleurd is. Het is in water en aether moeilijk, daarentegen in aethyl- en amylalcohol en chloroform zeer gemakkelijk oplosbaar. Met alkaliën en ammonia vormt het in water gemakkelijk oplosbare zouten. In zure omgeving slaat het urobiline neer bruinachtig rood van kleur. Oplossingen van urobiline in organische oplosmiddelen (alcohol, chloroform) vertoonen een schoone fluorescentie, die rose is bij doorvallend en groen bij opvallend licht. Reeds in sterk verdunden toestand kan men die fluorescentie zien, als men de in alcohol opgeloste urobiline bindt aan een zinkzout. Hierop berust de reactie van Schlesinger in urine; men doet bij een bepaalde hoeveelheid urine een even groote hoeveelheid van een verzadigde alcoholische oplossing van Zinkacetaat (10 Zinkacetaat, 90 alcohol 96%) en filtreert. Is er veel urobiline in de urine, dan ziet men onmiddellijk de fluorescentie, anders doet men er één druppel van een 1% oplossing van tinctura iodii bij, waardoor de kleurlooze voortrap van de urobiline, 't urobilinogeen, in de urobiline wordt omgezet.

Deze methode om het urobilinogeen in urobiline over te voeren is door Engel en Kiener 't eerst gebruikt; ook Ladage maakte er bij zijn onderzoek een ruim gebruik van.

Om de urobiline in de faeces aan te toonen is het slechts noodig een kleine hoeveelheid daarvan met het reagens van Schlesinger samen te wrijven en te filtreeren; de hoeveelheid urobiline in de faeces is meestal wel zoo groot, dat men onmiddellijk een mooi fluoresceerend filtraat verkrijgt.

Ook spectroscopisch kan men de urobiline aantoonen; in zure oplossing geeft ze een duidelijke streep tusschen b en F en wel bij $\lambda =$ 480—500; in alkalische oplossing is de streep wat meer naar den rooden kant van het spectrum verschoven en wel bij $\lambda =$ 500—510; de neutrale zinkverbinding geeft de streep bij $\lambda =$ 498—514, de ammoniakale bij $\lambda =$ 497—519. De urobiline wordt niet als zoodanig gevormd en uitgescheiden, maar als urobilinogeen. De versche ontlasting en de versche normale urine bevatten uitsluitend urobilinogeen; bij pathologische echter, die veel urobilinogeen bevatten, wordt ook onmiddellijk urobiline uitgescheiden. Onder invloed van licht en lucht en andere oxydeerende processen gaat het kleurlooze urobilinogeen in urobiline over.

Het is Fischer en Meyer-Betz gelukt het urobilinogeen uit sterk urobilinehoudende urine in kristalvorm af te scheiden; het is evenals urobiline goed oplosbaar in aethyl- en amylalcohol en chloroform, doch in tegenstelling met die stof gaat het eveneens gemakkelijk over in water, aether en petroleumaether.

Het urobilinogeen is aan te toonen, zooals Neubauer ons geleerd heeft, met het reagens van Ehrlich, het paradimethylamidobenzaldehyd in zure oplossing. Het reagens maakt men door 2 G paradimethylamidobenzaldehyd in 50 cc. geconcentreerd, rookend zoutzuur op te lossen en dit met water te verdunnen tot 100 cc. Bij elke 10 cc. van de te onderzoeken urine voegt men 1 cc. van het reagens; er ontstaat dan een mooie roode kleur, die spectroscopisch een zeer karakteristieke streep geeft tusschen D en E bij $\lambda =$ 550—570. Is de reactie in de koude zwak, dan neemt bij verwarmen de roode kleur sterk aan intensiteit toe. Deze reactie is niet specifiek voor urobilinogeen, maar zooals Neubauer zelf aangetoond heeft, voor de niet stabiele pyrrolen, d.w.z. die

aan den ring één of meer —CH groepen bezitten. Door de onderzoekingen van Thomas en van Fischer en Meyer Betz is dit nog eens bevestigd geworden. Dit is de reden, waarom ook indol en skatol met het benzaldehyd een roodgekleurde verbinding aangaan. Terwen heeft echter gevonden, dat wanneer men deze roode indol- en skatolverbindingen met een verzadigde oplossing van natriumacetaat schudt, die roode kleur weer verdwijnt. We hebben hierbij dus een specifiek verschil tusschen de roode verbinding, die het p-amidobenzaldehyd aangaat met het urobilinogeen en met het skatol en indol. Ook spectroscopisch is er verschil, daar de roode skatol- en indolverbindingen twee streepen geven, n.l. een op de plaats van het urobilinogeen en een in het groen bij $\lambda = 520—540$. De reactie met het benzaldehyd is voor urine niet bruikbaar, wanneer de patient formaldehyd-afsplitsende geneesmiddelen, b.v. urotropine heeft gebruikt. Groszmann heeft er 't eerst de aandacht op gevestigd, dat de aldehydreactie in urobilinogeenhoudende urines negatief kan zijn, maar dat, wanneer men deze urines dialyseert, de reactie positief worden kan. Er zijn dus stoffen in de urine, die de reactie remmen.

Steensma mengde urobilinehoudende urines met normale en zag de aldehydreactie veel minder mooi verloopen; ook hij vond dus die storende stoffen.

Er is nog een tweede reactie op urobilinogeen, eveneens van Ehrlich, waarop Thomas in zijn proefschrift over „Urobilinogen" de aandacht gevestigd heeft. Ze dateert reeds van 1886 en is bekend als de „eigeelreactie" en is een diazoreactie, die negatief uitvalt bij urobiline. Men doet bij de urine een versch bereide zure oplossing van sulfo*diazo* benzol (het reagens als gebruikelijk is bij de gewone diazoreactie), waardoor de urine, indien er urobilinogeen in aanwezig is, een intensieve oranjekleuring vertoont; doet men er nu ammonia bij, dan maakt die oranjekleur plaats voor een even intensieve citroengele.

Urobiline wordt door de inwerking van oxydeerende of reduceerende stoffen gemakkelijk veranderd. Bij de alkalische gisting van de urine wordt het in urobilinogeen omgezet. Dit verdwijnt niet meer uit de urine.

Komen urobiline en bilirubine gelijktijdig in de urine voor, dan kan men, gelijk Steensma doet, de bilirubine verwijderen met natriumcarbonaat en calciumchloride, zooals bij de reactie op galkleurstoffen volgens Huppert-Salkowski geschiedt; in 't filtraat zoeke men dan naar urobiline.

Men kan het ook doen volgens de methode van Beyers, die een dergelijke urine in een collodiumzakje in aqua destillata plaatst. Dan gaat zeer spoedig de urobiline in dit water over, terwijl de galkleurstof niet diffundeert.

Nadat Jaffé de urobiline in de urine had ontdekt, werd door Van Lair en Masius in 1871 de stercobiline in de faeces gevonden. Jaffé hield beide kleurstoffen voor indentiek, een meening, die in den loop der jaren bij herhaling bevestigd is, zoodat het woord „stercobiline" geheel is vervallen. Dat urobiline een product van de galkleurstof is, bewees in het experiment Städeler het eerst, die op alkalische bilirubine natriumamalgaam liet inwerken en zoo een stof kreeg, die geheel identiek was met de uit de urine verkregen urobiline. Maly deed ditzelfde onderzoek met veel meer bilirubine. Omdat bij deze bewerking bilirubine water en waterstof opnam volgens de formule:

$$2\ C_{16}H_{18}\ N_2\ O_3 + H_2 + H_2\ O = C_{32}\ H_{40}N_4O_7$$

noemde hij het verkregen product *hydrobilirubine*.

Disqué, die de proeven van Städeler en van Maly herhaalde, liet het reductiemiddel langer inwerken en kreeg een kleurloos product, het *urobilinogeen*, dat door opname van zuurstof weer in urobiline kan overgaan.

De hydrobilirubine bestaat volgens Fischer en Meyer-Betz uit twee lichamen, de kristalliseerbare *hemibilirubine* en een niet kristalliseerbare stof, de bij oxydatie veel haematinezuur leverende component van bilirubine. De spectroscoop kon hen hier niet uit de verlegenheid helpen, omdat deze stoffen, die pyrrolverbindingen zijn, dezelfde eigenschappen bezitten.

Uit een urine, die een sterke aldehydreactie gaf, hebben zij een stof laten kristalliseeren, die kristallografisch geheel identiek was met hemibilirubine. Hiermee was voor het eerst het zuivere bewijs geleverd, dat er een chemisch verband bestaat tusschen bilirubine en urobiline. Door oxydatie

kan hemibilirubine in urobiline overgaan. Ook chemisch komt de stof, die uit de urine in kristallen werd afgescheiden, geheel met de hemibilirubine overeen; de aldehydreactie is bij beide aanwezig en spectroscopisch wordt dezelfde streep gevonden.

Dit met het hemibilirubine indentieke product der faeces noemden Fischer en Meyer-Betz *mesobilirubinogeen* en heeft volgens hen de formule: C_{33} H_{44} N_4O_6.

Het mesobilirubinogeen is dus wat wij urobilinogeen noemen. Charnas heeft urobilinogeen uit de faeces laten kristalliseeren, maar heeft het vermoedelijk niet geheel zuiver gekregen.

Urobiline komt als urobilinogeen voor in faeces, gal en volgens de meeste schrijvers ook in normale urine. Volgens Hildebrandt, die de urobiline grondig bestudeerd heeft, zijn urobiline en urobilinogeen in klinische beteekenis gelijkwaardig.

In de versche, normale urine komt uitsluitend urobilinogeen voor, geen urobiline. Of in elke normale urine deze stof voorkomt, is een vraag, die niet eensluidend wordt beantwoord. En onder hen, die meenen, dat wel elke urine het urobilinogeen bevat, is er een sterk verschil van meening over de hoeveelheid, waarmee deze stof er in voorkomt, meestal afhankelijk van de mthode, die men gebruikte. In de daghoeveelheid urine vindt:

Saillet	30—130 m.G. urobiline.
Gerhardt	7,4—7,9 m.G.
HoppeSeyler	80—140 m.G.
F. Müller	tot 20 m.G.
Adler	tot 20 à 25 m.G.

Brugsch en Retzlaff vonden slechts sporen urobiline.

Groote hoeveelheden urobiline zijn door mij nooit gevonden. Met de methode van Terwen werkende kon ik in de meeste normale urines slechts een niet meetbare hoeveelheid urobiline vinden; de hoogst gevonden waarde was 1 m.G.

Of 't waar is, wat Mac Munn als eerste uitsprak, dat er verschillende soorten urobiline zijn — hij sprak van koorts — en normale urobiline — weet men niet, alhoewel het door bijna alle schrijvers wordt ontkend. Bij 't reduceeren van urobiline tot urobilinogeen volgens het procédé, dat door Ter-

wen aangegeven is, viel het mij op, hoe makkelijk het de eene keer gaat en hoe moeilijk de andere, hoe de eene keer de reductie volledig verliep en een volgende keer altijd een deel der urobiline onveranderd bleef. Of dit verband houdt met een verschil in hoedanigheid van de urobiline of wellicht met de aanwezigheid van een oxydeerende stof in de urine, heb ik niet kunnen bewijzen.

In pathologische omstandigheden kan de hoeveelheid urobiline, die in de urine voorkomt, sterk toenemen. Door Hildebrandt en door Steensma is dit voor vele ziekten nagegaan. Urobilinurie komt bij zoovele ziekten voor, dat het haast makkelijker is te zeggen wanneer ze niet, dan wanneer ze wel voorkomt.

Ze komt voor:

1e. bij leverziekten, echter niet bij het amyloid van de lever, en bij de acute gele leveratrophie alleen in het begin; ze komt voor bij diffuse leverziekten, maar is niet noodzakelijk bij een plaatselijk leverlijden.
2e. bij alle ziekten, die met sterke temperatuursverhoogingen gepaard gaan, vooral infectieziekten, zooals scarlatina, sepsis, croupeuse pneumonie, rheumatismus articulorum acutus. De urobilinurie ontstaat hier vermoedelijk tengevolge van parenchymateuse celveranderingen in de lever.
3e. bij bloedziekten, die gepaard gaan met een sterke afbraak der roode bloedlichaampjes, zooals bij pernicieuse anaemie en haemolytischen icterus het geval is. Bij leukämie ontbreekt de urobilinurie bijna altijd.

Hoewel geen ziekten der bloedbereidende organen hooren hier ook thuis de malaria, de zwartwaterkoorts en de paroxysmale haemoglobinurie, die met sterke bloeddestructie gepaard gaan.

Deze verhoogde bloedafbraak geeft aanleiding tot vermeerderde galkleurstofvorming en daardoor tot een vermeerderde urobilinevorming. De vraag is nu of hier de urobilinurie berust op levercelbeschadiging, dan wel, dat ze ontstaat, doordat de normale lever de te groote hoeveelheid urobiline niet verwerken kan.

4e. bij bloedingen en wel inwendige bloedingen, waarbij het bloed dus niet komt in een naar buitenvoerend kanaal, b.v. haematothorax, traumatische hersenbloeding.

5e. bij decompensatio cordis; komt het hart weer in compensatie, dan verdwijnt ook de urobilinurie. De urobilinurie is hier wel altijd het gevolg van een stuwingslever.

6e. bij vergiftigingen, b.v. met lood, alcohol, sulfonal, antifebrine.

Hier zal de levercelbeschadiging wel de oorzaak der urobilinurie zijn.

We willen nog wijzen op een gedachte door Eppinger en Charnas geuit, n.l., dat het mogelijk moet zijn de grens voor een alimentaire urobilinurie vast te stellen, d.w.z. na te gaan, hoeveel urobiline in 't darmkanaal aanwezig kan zijn en door een gezonde lever verwerkt kan worden, zonder dat er urobilinurie bij ontstaat.

Dit zal wel uiterst moeilijk zijn, daar het vermogen van de lever om urobiline te verwerken zonder dat het tot urobilinurie komt, individueel zeer verschillend is. Uit de nog nader te geven getallen van urobilinevorming bij eenige ziekten, zal men kunnen zien, hoe de lever in staat is groote hoeveelheden urobiline te verwerken zonder dat het tot urobilinurie komt.

Behalve pathologische urobilinurieën, komen er zooals Steensma het eerst heeft aangetoond, ook onschuldige voor, waaronder hij verstaat:

1e. orthostatische urobilinurie, waarbij dus geen urobiline wordt gevonden na rust, maar wel na beweging. Deze vorm is vaak familiair.

2e. de urobilinurie bij diabetici, waarbij de urobilinurie afhankelijk is van het dieet, n.l. van de groentedagen. Buiten een groentedag kwam bij hen, mits ze een ongecompliceerde diabetes hadden, geen urobilinurie voor.

3e. hongerurobilinurie. Wordt er om een of andere reden gehongerd, dan treedt er urobilinurie op, meestal gelijktijdig met acetonurie.

In faeces van den gezonden mensch komt steeds urobiline voor, die geheel als urobilinogeen wordt uitgescheiden. Onder invloed van licht en lucht ontstaat uit dat urobilinogeen urobiline.

De hoeveelheid urobiline, die per dag wordt uitgescheiden, wordt opgegeven te zijn, door Charnas 130 m.G., door Adler 200 m.G., door Hueck en Brehme 61 m.G.

Ik zelf vond bij een serie normale personen, dat gemiddeld dagelijks de urobiline-uitscheiding met de faeces, gemeten over een periode van 7 à 10 dagen, de 200 m.G. niet te boven gaat. Op deze cijfers kom ik bij het hoofdstuk „quantitatieve urobilinebepalingen" uitvoerig terug.

De urobilineuitscheiding met de faeces kan onder pathologische omstandigheden sterk vermeerderen bij die ziekten, die met een verhoogde bloedafbraak gepaard gaan.

Bij den mensch is boven in den dunnen darm veel urobilinogeen, afkomstig van de gal, aantoonbaar; onder in den dunnen darm is deze hoeveelheid door resorptie sterk verminderd; in den dikken darm neemt ze weder sterk toe door de reductie van bilirubine. Over den omvang der resorptie van dat urobilinogeen uit den dikken darm, weten wij nog weinig.

Niet alleen uit vergelijkend physiologisch oogpunt, maar ook wijl wij van het dierexperiment zoo vaak gebruik maken, heeft het zijn nut eens na te gaan, hoe het met de normale urobiline-uitscheiding met de faeces gesteld is bij onze huisdieren.

Wester vond normaal urobiline in de faeces van paarden, koeien en honden. Steensma vond dit eveneens in de faeces van eenige roofdieren en apen, van hond en kat, maar vond het afwezig bij het konijn, zebra en kameel.

Beyers vond bij volwassen geiten, schapen en konijnen geen urobiline of hoogstens sporen in de faeces. Hij meent dit te moeten toeschrijven aan de zeer groote lengte van het darmkanaal dezer dieren, waardoor de resorptie veel langer kan duren, misschien ook wel een omzetting van de urobiline plaats vindt. Want de urobiline wordt wel gevormd in den darm van deze dieren; laxeert men het dier, dan komt de urobiline met de faeces te voorschijn. Het is vermoedelijk door de sterke resorptie in den dikken darm, waardoor bijna alle vocht aan de darmcontenta wordt onttrokken, dat ook de meeste urobiline verdwijnt. Bij het dier is het coecum de plaats, waar het meest urobiline wordt gevormd.

Of het normale bloed urobiline bevat is nog niet zeker. De beste methode om het aan te toonen is met de reactie van Schlesinger, waarmee men nog 0.000085 % urobiline in het serum kan aantoonen. Men kan het alleen in het serum aantoonen, niet in het bloed, omdat de erythrocyten storend werken op de reactie, zooals Schlesinger al had gevonden. Het bleek Beyers, dat de storende werking aan het haemoglobine moet worden toegeschreven, want een haemoglobineoplossing heeft denzelfden invloed, als de roode bloedcellen.

Peters meent, dat in het bloed van normale personen steeds urobiline voorkomt, maar in zoo geringe hoeveelheid, dat het met de gewone laboratoriumproeven niet mogelijk is dit aan te toonen. Hij doet dit met een speciaal daarvoor vervaardigd toestel, waarmee hij zegt in staat te zijn urobiline aan te toonen in een verdunning van 1 op 2.000.000.

Weltmann en Löwenstein hebben het vorige jaar nog een onderzoek ingesteld naar het voorkomen van urobiline in het serum met de reactie van Schlesinger en met de aldehydreactie van Ehrlich. Het gelukte hun vaak, maar niet altijd, urobiline in het serum te vinden. Vermeerderd was het steeds bij de croupeuse pneumonie, vaak ook bij decompensatio cordis en bij galsteenen met urobilinurie.

In de *menschelijke gal* wordt wel steeds urobilinogeen gevonden.

HOOFDSTUK II.

Het ontstaan der urobiline.

Over de wijze, waarop urobiline in het menschelijk lichaam ontstaat, is veel gestreden. Verschillende theorieën hebben in den loop der tijden daarover het licht gezien en feitelijk is men het er nog niet over eens, al zal ieder moeten toegeven, dat één theorie, de enterogene, verreweg de meeste aanhangers telt.

Door niemand wordt tegenwoordig wel meer de *nephrogene theorie* die van Von Leube afkomstig is, verdedigd. De door de levercel geproduceerde bilirubine zou dan door het nierparenchym gereduceerd worden tot urobiline. Deze theorie heeft ook geen schijn van werkelijkheid, want hoe komt dan de urobiline in het bloedserum en in de faeces?

De tweede theorie, die feitelijk alleen maar historische waarde heeft, is de *histogene theorie,* waarvan Kunkel de vader is. Ze was gegrondvest op de waarneming bij den zgn. urobiline-icterus, waarbij wel een icterische huidverkleuring was, maar geen galkleurstoffen in de urine konden worden aangetoond. In de weefsels nu had de omzetting van de galkleurstof tot urobiline plaats, die na resorptie in het bloed als zoodanig met de urine werd uitgescheiden. Men zou dus in de weefsels de urobiline moeten kunnen aantoonen, 't geen niet het geval is. Quincke heeft dit onderzocht, maar heeft nooit urobiline in de huid kunnen vinden.

Er is in de kliniek echter één feit, dat de heele theorie onmogelijk maakt. Wanneer n.l. door een of andere oorzaak de ductus choledochus geheel wordt afgesloten, houdt de

urobilinurie op, terwijl er een buitengewoon sterke icterus is en de weefsels dus met een groote hoeveelheid galkleurstof zijn doordrenkt. Het tweede feit, dat tegen de theorie pleit, is, dat bij elk geval van icterus het bilirubinegehalte van het serum sterk is verhoogd, hetgeen er op wijst, dat de gele huidkleur van galkleurstoffen afhankelijk is.

Reeds meer aanhangers, vooral in Frankrijk, vindt de *hepatogene theorie*, waarvan Hayem en Tissier de groote verdedigers zijn. Volgens hen produceert de gezonde lever bilirubine, de zieke urobiline; urobilinurie is dus een symptoom van leverinsufficientie. Het nauwe verband, dat er bestaat tusschen urobilinurie en leverziekte, heeft feitelijk deze theorie doen ontstaan. Deze theorie verklaart ook, waarom er urobilinurie optreedt bij sterke bloedafbraak; de te groote hoeveelheid aangevoerde haemoglobine kan door de lever niet op de juiste manier verwerkt worden en er ontstaat urobiline.

Dat deze laatste redeneering geheel fout is, ligt voor de hand, wanneer men bedenkt, dat urobiline uit bilirubine ontstaat. Om dezelfde reden is het ook onjuist gedacht, dat de zieke lever alleen maar urobiline vormen kan; waarom zou de beschadigde levercel de haemoglobine verder omzetten dan de gezonde, dus een intensiever werking ontvouwen?

Deze hepatogene theorie heeft in de latere jaren nog een krachtigen voorvechter gevonden in Fischler, die deze theorie op grond van zeer uitvoerige experimenten op honden verdedigt in zijn in 1916 verschenen boek „Physiologie und Pathologie der Leber".

Een zuivere hepatogene theorie verdedigt Fischler niet; hij erkent de juistheid der nog te bespreken enterogene theorie, maar wil er den nadruk op leggen, dat daarnevens nog een hepatogene vorming van de urobiline mogelijk is. Hij heeft twee vragen daarbij trachten op te lossen:

1e. of er een urobilinurie bestaat, zonder dat de vorming van deze stof in den darm daarbij een rol speelt;

2e. waar de plaats is dezer extra-intestinale vorming.

Hij vergiftigde zijne honden, bij wie de darm bij de urobilinevorming was uitgeschakeld, met aethyl-amyl alcohol of Phosphorolie en zag dan urobilinurie optreden. Bij de

sectie dezer honden bleken alle sterke leververanderingen te hebben.

De kritiek op deze proeven uitvoerig na te gaan zou ons te ver voeren.

Het is moeilijk, om, zooals Eppinger zegt, de galfistel aseptisch te houden, maar nog meer steekhoudend lijkt mij het verweer, dat ligt opgesloten in de waarneming, die Steensma deed met zijn galfistelhonden. Hij zag dan, ook onder de beste voorwaarden, plotseling urobiline in de faeces optreden. Bij sectie bleek een maag-darmbloeding aanwezig te zijn, waardoor galkleurstofhoudend bloed in het darmkanaal was gekomen en langs dezen weg kon zich de urobiline vormen. Of deze proeven ook in hun conclusie voor den mensch gelden, daarover is Fischler zeer voorzichtig. Hij schrijft: „Niemand, wie ich, ist mehr davon überzeugt, dass wir nach bisherigen klinischen Erfahrungen mit einer ausschliesslich enterogenen Entstehung des Urobilins und seiner Vorstufe zu rechnen haben. In welcher Weise die Leber aber regelnd und zwar massgebend regelnd in den Urobilinstoffwechsel eingreift, für diese Ansicht habe ich die experimentellen Grundlagen zu erbringen versucht, ohne welche auch eine ausgedehnte klinische Erfahrung in diesen Fragen notwendigerweise lückenhaft bleiben müszte".

Men ziet het, dat Fischler op twee gedachten hinkt; hij erkent de juistheid van de nu direct te bespreken enterogene theorie, maar wil de hepatogene toch niet geheel los laten.

De theorie, die op dit oogenblik wel de meeste aanhangers heeft, is de *enterogene*. Fr. Müller heeft haar gesteund met een experiment, dat zoo bewijzend is, dat tot op heden dit nog altijd wordt aangehaald. In een discussie op het 11e Congress für innere Medizin in 1892 naar aanleiding van voordrachten van Rosenstein en Stadelman over chronische leverontsteking, keerde hij zich tegen de theorie van de „insuffisance hépatique" en stelde de theorie op, dat urobiline in den darm ontstaat, waar ze uit bilirubine gevormd wordt door reductie onder invloed der darmbacteriën.

Hij had de theorie getoetst aan het experiment. Hij gaf een patient, die reeds weken lang een volledige afsluiting

van den ductus choledochus had en die bij herhaald onderzoek geen spoor van urobiline in de urine en de faeces vertoonde, gedurende eenige dagen varkensgal, die vrij was van urobiline. Gedurende die varkensgaltoediening kwam er duidelijk urobiline in faeces en urine; toen hij ophield met de toediening verdween ook de kleurstof weer uit de beide excretieproducten.

Het is hem daarbij gelukt in vitro uit bilirubine en uit urobilinevrije gal, waarop rottingsbacteriën inwerkten, urobiline te vormen.

Deze waarneming van Fr. Müller is in het experiment en in de kliniek tallooze malen bevestigd, zoodat de enterogene theorie thans wel als de juiste geldt. Men denkt zich den gang van zaken zoo: de bilirubine van de gal wordt onder invloed der darmbacteriën in den darm gereduceerd tot urobilinogeen, dat voor een deel door 't bloed van het poortaderstelsel wordt geresorbeerd en naar de lever gevoerd; een ander deel wordt met de faeces verwijderd. Wat de lever nu met dit urobilinogeen doet, is niet heelemaal duidelijk; voor een deel gaat het gewoon in de gal over en komt zoo dus weer in den darm terecht. Dat dit zoo is wordt bewezen door de aanwezigheid van het urobilinogeen in normale gal. Of nu alles naar den darm wordt teruggevoerd, weet men niet; men neemt meestal aan, dat een ander deel van het urobilinogeen weer door de lever wordt gebruikt bij de galvorming. Weltmann meent, dat het urobilinogeen een rol als katalysator speelt bij de omzetting van de bilirubine tot urobilinogeen in den darm. Zoo is het als de lever normaal functioneert. Normaal mag dus geen urobiline in de urine voorkomen.

Is de ductus choledochus geheel afgesloten, wat een groote uitzondering is, dan komt er sterke icterus, maar noch in de faeces noch in de urine is urobiline aantoonbaar. Dat in enkele gevallen nog sporen urobiline in de faeces voorkomen, zou met de theorie van D. Gerhardt verklaard kunnen worden, die meent, dat mèt het darmsap ook galkleurstof in het darmlumen wordt uitgescheiden. Men zou het ook, in analogie van de op bldz. 15 besproken waarneming van Steensma aan galfistelhonden, kunnen verklaren door bloedingen in het maagdarmkanaal, waardoor

galkleurstofhoudend bloed in den darm komt, wijl we weten, dat icterische patienten zeer maklijk bloeden.

Is nu de lever door een of andere oorzaak, b.v. levercelbeschadiging of te grooten toevloed van haemoglobine bij uitgebreide bloedafbraak, niet in staat alle haar door den poortader toegevoerde urobilinogeen af te voeren of te verwerken, dan gaat het urobilinogeen in de groote circulatie over en komt het tot urobilinurie.

In den laatsten tijd is op de beroemde proef van Fr. Müller door Weltmann een doelbewuste kritiek uitgeoefend. Bij een vrouw, die op de kliniek van Eiselsberg lag met totale choledochusafsluiting en een galfistel naar buiten, werd geen urobilinogeen in de gal gevonden en slechts sporen daarvan in de faeces en urine, waarvoor de juist gegeven verklaringen dus gelden kunen. Hij gaf deze patiente 250 cc. van haar eigen urobilinevrije gal, die een bilirubinegehalte had van 1 : 8000 volgens Hijmans van den Bergh. In de ontlasting was een dag daarna urobilinogeen in sporen aan te toonen, nòch in de urine nòch in de gal was ook maar een spoor van vermeerdering. Patiente kreeg nu twee keer 100 mG. zuivere bilirubine in geharde gelatinekapsels in alkalische bouillon. Maar ook dit gaf geen positief resultaat.

Hij gaf de patiente 250 cc. versche urobilinevrije varkensgal. Was de urobilinogeenreactie vóór de proef in de urine 1: 4, 2½ uur daarna was ze reeds 1 : 64 en vier uur daarna 1 : 128. 's Avonds had de patiente ontlasting, waarin urobilinogeen zwak positief was en bilirubine zwak aantoonbaar. In de gal was geen urobiline aantoonbaar.

't Opmerkelijke bij de proef is, dat na 2½ uur al urobilinurie aantoonbaar was. Bacteriëele omzetting in den darm kan dit niet hebben veroorzaakt. Het onderzoek van de gal bracht de oplossing van dit vreemde feit. Versche varkensgal is wel vrij van urobiline, maar niet van urobilinogeen. Die snelle urobilinurie komt dus door de resorptie van het urobilinogeen uit de varkensgal. Müller deed zijn proeven in 1892 en in 1903 werd eerst door Neubauer de aldehydreactie toegepast, werd dus het urobilinogeen op eenvoudige wijze aantoonbaar.

Ik zeide zooeven, dat door Weltmann een doelbewuste kritiek op de proef van Müller werd uitgeoefend, want

niet doelbewust was dat reeds vroeger door anderen gedaan. Zoo maakte Beck in 1895 galfistelhonden en onderbond de ductus choledochus. Na eenige dagen was er geen urobiline meer in de gal, noch in de ontlasting of urine. Hij voerde toen met de sonde in de hondenmaag 25 cc. van deze urobilinevrije hondengal. Na 7 uur verscheen al urobiline in de gal. Hij schreef dit vreemde verschijnsel toe aan een reductie in de gal zelve van bilirubine tot urobiline. Hij nam hetzelfde waar, als hij ossengal gaf.

Veel mooier is het geval, dat Hildebrandt beschrijft. Bij een vrouw met totale choledochusafsluiting (zooals later bij operatie bleek door een pakket verkalkte lymphklieren) werd in de urine en faeces geen spoor van urobiline gevonden. Ze kreeg met de sonde 70 cc. versche urobilinevrije varkensgal en reeds na drie uren trad een sterke urobilinurie op.

Het mag dan waar zijn, dat de proef van Müller niet in orde was, aan de juistheid van de enterogene theorie doet dit ten slotte weinig af en de overtuiging, dat de urobiline afkomstig is van de bilirubine wordt er niet door in gevaar gebracht. De kliniek heeft ons haar waarde bewezen. Bij totale choledochusafsluiting ontbreekt de urobiline in faeces en urine om er weer in terug te keeren, zoodra de obstructie wordt opgeheven en de gal vrijelijk kan toestroomen.

Dat het eenigen tijd duurt voor de bilirubine werkelijk is omgezet, bewijst nog eens weer een waarneming van Fischler. Likt een galfistelhond zijn eigen gal op, dan verschijnt er na 24 uur urobiline in de gal; de maximale uitscheiding duurt echter veel langer. Het duurt dus eenigen tijd vóór de bilirubine is omgezet.

Er is nog een bewijs voor de enterogene theorie; bij pasgeborenen vindt men in de eerste twee dagen geen urobiline in de faeces, wel galkleurstoffen. In het steriele darmkanaal van den neonatus kan de omzetting van bilirubine nog niet plaats hebben. Bij pasgeboren veulens, kalveren en lammeren is dit door Beyers ook zoo gevonden.

Hoe plausibel ons deze enterogene theorie ook lijkt en hoe maklijk het ons ook valt met haar alle mogelijke gevallen van urobilinurie te verklaren, er komen toch weer oorzaken

voor, die tot urobilinurie leiden, die moeilijk passen in haar kader. Hiermee worden bedoeld die gevallen van urobilinurie, die het gevolg zijn van bloedingen in ons lichaam en die geleid hebben tot het doen ontstaan van de *haematogene theorie* ter verklaring van de urobilinevorming.

Von Bergmann heeft als eerste de urobilinurie aangetoond bij iemand, die na schedeltrauma een hersenbloeding had gekregen. Zoo vond Dick bij een geval van haematocele retrouterina urobilinurie. Nencki kon in het punctaat van die haematocele geen urobiline aantoonen, wel uroroseine en veel haematoidine. Ook de urobilinurie, die ontstaat bij subcutane bloedingen, bij een traumatische haematothorax valt onder deze theorie. De voorstanders van de haematogene theorie zoeken verband tusschen de resorptie van uitgestort bloed en urobilinurie. Die urobilinurie vindt men ook bij spontaan optredende haematothorax en apoplexia cerebri. Of hier een zuiver haematogene theorie op haar plaats zou zijn is een groote vraag, waar zij vaak uitingen zijn van een algemeen lijden.

Onder die haematogene theorie vallen ook de ziekten, die met groote bloedafbraak gepaard gaan, zooals de haemolytische icterus en de pernicieuse anaemie. Dit lijkt mij niet juist; we hebben hier niet met locale processen, maar met een algemeen lijden te doen, waarin het reticulo-endotheliale systeem een groote rol speelt. De verhoogde bloedafbraak door de milt en de gewijzigde leverfunctie zijn voldoende redenen om een urobilinurie te doen ontstaan, geheel passend in het kader van de enterogene theorie. Ditzelfde geldt voor de urobilinurie bij malaria en zwartwaterkoorts; niet alleen dat hier de bloedafbraak buitengewoon groot is, maar ook de lever zelve verandert onder invloed van het ziekmakende agens; vooral bij de zwartwaterkoorts, waar de destructie der erythrocyten zulke groote afmetingen aanneemt, is de lever in de meeste gevallen pijnlijk gezwollen.

Moeilijk blijft echter de verklaring van het in de litteratuur zoo bekende geval van D. Gerhardt, die bij een geval van galblaascarcinoom, waarbij zich snel een haemorrhagische ascites ontwikkelde, naast bilirubine veel urobiline in de urine vond, ofschoon het bij de sectie bleek, dat de ductus choledochus geheel afgesloten was. Geheel urobilinevrij

waren ook hier de faeces niet, zoomin als bij andere gevallen van totale galgangafsluiting, zooals we reeds besproken hebben. Was de urobilinurie hier sterk, dan hebben we inderdaad met een geval te doen, dat door de enterogene theorie niet kan worden verklaard.

De gevallen van urobilinurie bij traumatische bloedingen zijn wel met de enterogene theorie te verklaren door een pleiochrome gal aan te nemen, hoewel dit niet te bewijzen is; om hierbij echter een beschadiging van het leverparenchym aan te nemen, lijkt mij niet toelaatbaar, wijl er geen schijn van bewijs voor is.

Dat er echter urobilinevorming kan plaats hebben, die op geen enkele wijze door de enterogene theorie te verklaren is, bewijst de volgende proef.

Op 30 Januari 1924 wordt bij mijzelve, die geen urobilinurie had, afgenomen door venepunctie ruim 50 cc. bloed, dat gehaemolyseerd wordt door het te bevriezen en daarna weer te ontdooien. Van dit gehaemolyseerde bloed wordt mij 31 Januari 's middags om 5 uur 50 cc. onder de dijhuid gespoten; er trad daarna geen koorts op. De urine wordt verzameld tot den volgenden morgen, 1 Februari, 9 uur. In de gedurende 16 uur verzamelde 700 cc. urine is met 't reagens van Schlesinger, en ook spectroscopisch, de urobiline duidelijk aanwezig. In de volgende 24 uur wordt 1000 cc. urine verzameld, waarin de urobilinereactie nog sterker is, dan in die van den vorigen dag. Ter contrôle werd eenige weken later 50 cc. steriele zoutsolutie onder de dijhuid gespoten, zonder dat dit tot urobilinurie aanleiding gaf.

Op 5 Maart 1924 werd collega T., die geen urobilinurie vertoonde, ruim 50 cc. bloed per venepunctie afgenomen, dit gedefibrineerd en gehaemolyseerd op de wijze als boven beschreven. Op 6 Maart 1924 werd hem om 5 uur n.m. 50 cc. van dit gehaemolyseerde bloed onder de rughuid tusschen de schouderbladen gespoten. Er trad daarna geen koorts op. De urine werd nu in afzonderlijke porties opgevangen. 's Avonds om twaalf uur, dus zeven uur na de injectie, trad een duidelijk aantoonbare urobilinurie op.

Dit snelle optreden van de urobiline kan niet door de enterogene theorie worden verklaard. Vóórdat de haemoglobine tot gal en deze weer in den darm tot urobilinogeen

is verwerkt, verloopen zeker 2×24 uur, en de urobiline trad bij collega T. op na 7 uur en was in mijn urine van de eerste zestien uur al aantoonbaar. Noch leverbeschadiging noch pleiochromegal kan hier de urobilinurie hebben veroorzaakt. De omzetting van de haemoglobine tot urobiline moet hebben plaats gehad òf in de weefsels òf in de bloedbaan zelve, maar darm noch lever hebben bij haar vorming een rol gespeeld.

Buiten het entero-hepatogene systeem om kan dus urobiline in ons lichaam ontstaan. Voor de verklaring der urobilinurie na traumatische bloeding is dus geen aanname van levercelbeschadiging of pleiochromie noodzakelijk.

Interessant is het, dat volgens B e y e r s bij onze huisdieren, die groote haematomen kunnen hebben, waarin zich Liters bloed bevinden, nooit urobilinurie optreedt en dat ook nimmer urobiline in het haematoom aangetoond kan worden.

Ter verklaring der urobilinurie heeft B r u l é eenige jaren geleden een eigen theorie het licht doen zien. Hij gaat uit van vier voor hem vaststaande feiten, 1e. dat er een nauw verband is, klinisch en chemisch, tusschen urobiline en bilirubine; 2e. dat urobilinurie in de meeste gevallen gepaard gaat met bilirubinaemie; 3e. dat urobilinurie bijna altijd gepaard gaat met urobilinaemie en 4e. dat men behalve urobiline meestal ook galzure zouten in de urine vindt. Elk serum bevat, al is 't dan in sporen, bilirubine. Om tot bilirubinurie te komen moet de bilirubinaemie een zekere waarde hebben bereikt.

(We kennen dit verschijnsel ook bij de glucoserie; er is altijd glucose in 't bloed, maar de glycaemie moet een zekere grens overschrijden voor het tot glycosurie komt). Zoo kan er al heel wat bilirubine in het bloed zijn, zonder dat er bilirubinurie is; 't organisme zet die vermeerderde bilirubine om in urobilinogeen. H i j m a n s v a n d e n B e r g vond, dat de drempelwaarde voor de bilirubine-uitscheiding met de urine lag bij een serumwaarde van 1 : 50.000. Wordt nu de bilirubinaemie grooter en daardoor de drempel van uitscheiding overschreden, dan komt het tot bilirubinurie, maar het organisme, dat zich verdedigt tegen de galimpregnatie, zet de bilirubine om in urobiline. Neemt de bilirubinaemie toe,

komt er steeds meer gal in de weefsels, dan wordt de verdediging van die weefsels tegen de galimpregnatie al minder, totdat ze ten slotte niet meer in staat zijn de overmaat van bilirubine in urobiline om te zetten; de urobiline verdwijnt. Ze keert weer terug, als de bilirubinaemie minder wordt, de weefsels minder sterk met gal zijn doordrenkt en ze dus weer urobiline kunnen vormen.

De drempelwaarde voor de bilirubine-uitscheiding is bij den mensch zeer hoog, ook bij het konijn, maar bij den hond zeer laag.

Wel zeer gezocht is deze hypothese, die weefsels actief laat optreden naar eigen believen en geen rekening houdt met de physicochemische processen in ons lichaam. En ze is in strijd met de feiten. Bij de zwartwaterkoorts is er een sterke bilirubinaemie; diep geel zien de patienten, die doodziek zijn. Maar *nooit* komt het hier tot bilirubinurie, alleen urobilinurie bestaat en bij zulk een zwaar ziek mensch zal de vitaliteit der weefsels toch wel sterk zijn afgenomen, dus ook de kans om zich tegen de galimpregnatie te verdedigen.

HOOFDSTUK III.

Quantitatieve Urobilinebepalingen.

Toen men eenmaal de urobiline had leeren kennen en weldra leeren afscheiden, ontstond vanzelf de wensch te kunnen bepalen hoeveel van deze stof met de urine en de ontlasting werd uitgescheiden; vooral de uitscheiding met de urine deed vele methoden ontstaan. Een van de eersten was die van G. Hoppe-Seyler; het was een gewichtsanalytische methode, waarbij hij uitging van 100 cc. urine, die met verdund zwavelzuur werden aangezuurd en met ammoniumsulfaat werden verzadigd. Na herhaaldelijk omroeren en nadat ze vele uren had gestaan, scheidden zich in de vloeistof roode vlokken af, terwijl in die vloeistof zelve geen urobiline meer was aan te toonen. Daarop volgde de filtratie, die niet te vroeg mocht gebeuren, omdat eerst alle urobilinogeen in urobiline moest zijn omgezet. Het residu werd daarna opgelost in een mengsel van gelijke deelen chloroform en alcohol. Bij dit alcohol-chloroformextract werd in een scheitrechter zooveel water gedaan, totdat de chloroform zich als zoodanig goed afscheidde; dit bleef staan totdat alles helder was. De chloroform werd dan verzameld in een gewogen bekerglas, op 't waterbad verdampt, de rest bij 100° gedroogd, met wat aether geextraheerd, weer ingedampt, in alcohol opgelost, ingedampt, gedroogd en gewogen. De waarden schommelden tusschen 0.08 en 0.14 G., 't gemiddelde was 0.123 G.

Deze wijze van werken heeft niet veel navolgers gevonden; ze was te omslachtig en de kans, dat er bij het herhaalde oplossen en indampen veel van de urobiline verloren ging, vrij groot.

De volgende methoden waren dan ook alle spectro-

analytische. Zij werkten, in 't algemeen genomen, volgens hetzelfde beginsel, n.l. dat ze alle urobilinogeen op de een of andere wijze omzetten in urobiline. In de zoo verkregen urobilinehoudende vloeistof werd het urobilinegehalte bepaald spectro-photometrisch of spectroscopisch. V i e r o r d t heeft de spectro-photometrische methode in de geneeskunde ingevoerd. Deze methode berust daarop, dat de extinktiecoëfficient van een gekleurde vloeistof voor een bepaald deel van het spectrum recht evenredig is met haar concentratie; dus is $C : E = C_1 : E_1$ waarin C en C_1 verschillende concentraties, E en E_1 de daarbij behoorende extinktiecoëfficienten zijn. Uit de juist gegeven vergelijking volgt dus, dat voor één en dezelfde kleurstof deze verhouding, die de „Absorptieverhouding" genoemd wordt, een constante is, die door A wordt voorgesteld; de concentratie is het gehalte aan kleurstof in grammen in 1 cc. Dus $A = \frac{C}{E}$ of $C = A \times E$. De extinktiecoëfficient, die de maat is voor de lichtabsorptie, is gelijk aan de negatieve logarithme van de lichtsterkte, die overblijft, als het licht door een absorbeerende vloeistoflaag van 1 c.M. dikte is gegaan; deze factor noemt men I. Deze vloeistoflaag is hier natuurlijk de kleurstofoplossing. Wanneer men dus I meet, dan kent men E, want $E = -\log. I$. De waarde A moet vooraf bepaald worden voor oplossingen van zuivere urobiline. Met de kennis van de grootte van A en van I berekent men C uit de vergelijking $C = A \times E$.

De spectrophotometrie, hoe voortreffelijk en nauwkeurig ze ook is, is voor een klinisch laboratorium onbruikbaar, wijl deze een buitengewoon kostbaar instrument eischt. Veel eenvoudiger is het daarom van de spectroscopische methode gebruik te maken, waarbij de urobilinebevattende vloeistof, die onderzocht moet worden, zoover verdund wordt, dat haar absorptiestreep in het spectrum even dik is, als die van een urobiline-oplossing van bekende sterkte. Men neemt bijna altijd de urobilinestreep zoo, dat ze nog juist even zichtbaar is. Men lost meestal 1 mG. urobiline, die in den handel gekocht is, op in een bepaalde hoeveelheid vloeistof, die altijd even groot is en bekijkt deze vloeistof steeds in een glazen vat van dezelfde afmeting. De hoeveelheid vloeistof, waarin men die 1 mG. urobiline oplost, is dus zooveel,

dat met behulp van hetzelfde glazen vat de absorptiestreep juist even zichtbaar is. Neemt men nu een bepaalde hoeveelheid van de te onderzoeken urobilinehoudende vloeistof, pipetteert die in een glazen vat en verdunt, tot men de absorptiestreep nog juist even ziet, dan weet men uit de grootte van de verdunning, hoeveel urobiline in die vloeistof zit. Het moeilijke van deze methode is wel, dat de bepaling afhangt van de spectroscoop, van de wijdte van de spleet van dit instrument, van de sterkte van 't licht, van het glazen vat, van den waarnemer. Het is dus noodig, dat telkens dezelfde onderzoeker dezelfde ingredienten voor de bepaling gebruikt.

Saillet heeft het eerst volgens deze methode gewerkt. Bij de urine voegde hij een weinig salpeterzuur om het aanwezige urobilinogeen in urobiline om te zetten en hij extraheerde dan de urobiline door middel van azijnaether. Hieraan wordt het weer onttrokken met licht ammoniakaalwater en bij deze waterige oplossing wordt wat zoutzuur toegevoegd, opdat zij de streep van urobiline in zure oplossing vertoone.

Men moet dus nagaan hoeveel urobiline (X) een bekend volumen urine (V) bevat om bij een bepaalde diktelaag (E) een nog juist zichtbare absorptiestreep te geven. Nemen wij als vergelijking een oplossing van 1 mG. urobiline in 22 cc. vloeistof bij een diktelaag van 15 mM., dan is:

$$X = \frac{V}{22\ cM.} \times \frac{15\ mM.}{E} \text{ en } E = 15\ mM. \text{ makende is } X = \frac{V}{22\ cM.}$$

Men heeft dus de urine te verdunnen tot een volumen V en men kan X maklijk berekenen.

Volgens dit principe van Saillet heeft Ladage, al was de methode dan wat gewijzigd, de urobilinebepalingen voor zijn voortreffelijk proefschrift gedaan. Zoo werkt ook Hannema in Rotterdam bij zijn quantitatieve urobilinebepalingen in de faeces. Ladage en Hannema beiden gebruiken het tinctura iodii als middel om het urobilinogeen in urobiline over te voeren; de eerste lost op in chloroform en verdunt verder met alcohol, de tweede lost op en verdunt met amylalcohol. Verder hebben beiden gebruik gemaakt van de eigenschap van urobiline om in geconcentreerde

oplossingen van ammoniumsulfaat volkomen onoplosbaar te zijn. Waar Ladage in ons land de eerste is geweest, die de quantitatieve methode in de kliniek heeft toegepast en daarmee zoowel 't urobilinegehalte van de urine als van de faeces bepaalde, zij hier nog eens zijn methode vermeld.

200 cc. worden afgemeten in een bekerglas en zwak zuur gemaakt met azijnzuur, daarna worden eenige druppels tinctura iodii onder flink roeren toegevoegd met het doel het aanwezige urobilinogeen om te zetten in urobiline. De urine wordt daarna verzadigd met ammoniumsulfaat in substantie, waardoor zich langzamerhand bruine vlokken afscheiden. Dit mengsel wordt in een hoog cylinderglas gegoten, het bekerglas nagespoeld met een verzadigde oplossing van ammoniumsulfaat en dit ook in het cylinderglas gebracht. Verder wordt in het cylinderglas 100 cc. zoutzure chloroform geschonken en daarna het glas met een caoutchouc kurk goed gesloten. Wanneer men nu flink geschud heeft en het glas eenigen tijd heeft laten staan, ziet men het mengsel zich in 2 lagen scheiden. De bovenste is de urine, welke veel van haar kleur verloren heeft, de onderste laag is de chloroform, die zich roodbruin heeft gekleurd. Tusschen beide lagen is een geelbruine massa, welke bestaat uit stoffen, die zoowel in zure chloroform als in een verzadigde oplossing van ammoniumsulfaat onoplosbaar zijn; urobiline kan men hierin na extractie met zuren alcohol niet meer aantoonen. Wanneer men flink geschud heeft, is ook in de bovenstaande urine geen spoor urobiline meer aan te toonen. Daar het nu moeilijk is al de chloroform weer af te scheiden, worden slechts 50 cc. chloroform verzameld. Men mag nu aannemen, dat hierin opgelost is de hoeveelheid urobiline, welke zich in 100 cc. urine bevindt.

Verder werkt en rekent Ladage gelijk Saillet. Hij doet dit chloroformextract in een glazen bakje, waarvan de binnenwanden 15 mM. van elkaar verwijderd zijn en bekijkt dit spectroscopisch; hij verdunt de chloroform met absoluten alcohol.

Het onderzoek der faeces verricht hij aldus: de faeces van 24 uren worden in één pot verzameld en daarna met zwak ammoniakaalwater fijn gewreven en verdund tot een zeer dunne breiïge massa. Meestal was de massa vloeibaar genoeg,

wanneer zij 3 Liter bedroeg. Hiervan werden 300 cc. verder bewerkt. Nadat 10 druppels tinctura iodii waren toegevoegd om het urobilinogeen om te zetten in urobiline, werd gefiltreerd, het op den filter teruggeblevene nog eens met ammoniakaalwater geëxtraheerd en daarna weer gefiltreerd. Het filtraat bevat nu de urobiline in alkalische oplossing. Het filtraat wordt door azijnzuur zuur gemaakt en daarna wordt de vloeistof met ammoniumsulfaat verzadigd. De urobiline scheidt zich af en wordt op dezelfde wijze, als boven voor de urine beschreven is, in zoutzure chloroform opgelost, waarna de spectroscopische bepaling kan plaats hebben.

Nog vele andere onderzoekers hebben volgens ditzelfde principe van spectroscopische bepaling gewerkt; de wijze waarop ze trachtten de urobiline zoo zuiver mogelijk te verkrijgen, verschilde alleen. In Frankrijk werkten zoo Auché en Descamps; in Amerika Wilbur and Addis. Deze beide laatsten merkten terecht op, dat met dat herhaalde precipiteeren en oplossen veel van de gemaklijk veranderlijke urobiline verloren gaat; en zij onthouden zich daarom van pogingen om de urobiline zuiver te verkrijgen, maar vergeten, dat men dan — en zeker volgens hun methode werkende — een zeer onvolledige bepaling krijgt. Deze onderzoekers brengen een waterige faecesoplossing samen met het reagens van Schlesinger, filtreeren en doen bij het filtraat het Ehrlich'sche benzaldehyd, waardoor de vloeistof afhankelijk van het gehalte aan urobilinogeeen min of meer rood gekleurd wordt. Zij zien nu spectroscopisch twee banden, één van de urobiline en één van het urobilinogeen; de gekleurde vloeistof wordt nu verdund, todat de beide banden juist verdwenen zijn; in den regel verdwijnt de urobilinogeenband het eerst. Uit die verdunning berekenen ze hoeveel urobilinogeen en hoeveel urobiline, ieder afzonderlijk, aanwezig zijn, tellen dit samen en weten hoeveel urobiline in de te onderzoeken stof zit. Ze drukken dit uit in „units". Waar we bij het onderzoek van het duodenaalsap nog uitvoerig op hun methodiek terugkomen, zal daar ook hun wijze van rekenen nauwkeurig worden besproken.

De jongste methode om urobiline quantitatief te bepalen, is die van Adler. Ook hij voert alle urobilinogeen over in urobiline en maakt voor de meting gebruik van een ge-

wijzigde methode van Schlesinger. Bij 10 cc. van de te onderzoeken urine, die zuur reageeren moet en dit desnoods met azijnzuur gemaakt wordt, voegt men 10 c.c. absoluten alcohol, 1 G. poedervormig zinkacetaat en drie druppels van een 3 % alcoholische jodiumoplossing. Dit wordt krachtig geschud en gefiltreerd, totdat het filtraat helder doorloopt; daarna verdunt men dit filtraat zoolang, tot er juist geen groene fluorescentie meer is. De verdunningsvloeistof is de volgende: 20 G. Zinkacetaat wordt in een maatkolf van 100 c.c. in koud water opgelost tot aan de streep; deze oplossing wordt verdund met 100 c.c. absoluten alcohol; komt er een troebeling, dan filtreert men. Het waarnemen van de fluorescentie, die juist verdwijnt, gebeurt in een zwart kastje, waar licht op de vloeistof valt door een nauwe spleet; hij stelt een tabel samen met verdunningen van zuivere urobiline, die spectro-photometrisch zijn bepaald; heeft hij nu met de te onderzoeken vloeistof de verdunning zoover gemaakt, dat de fluorescentie juist verdwenen is, dan weet hij hoe groot die verdunning is, zoekt die in de tabel op en weet dan hoeveel urobiline in de onderzochte vloeistof zit.

Zoo vindt hij, dat normale urine tot 20 à 25 mG. urobiline kan bevatten. De urobilinebepaling in de ontlasting heeft bij Adler op de volgende wijze plaats: de versche ontlasting wordt gewogen, goed gemengd, 5 G. afgewogen en in een mortier gebracht, waar ze met 20 c.c. petroleumaether (of ook ligroïne) wordt overgoten en 2 à 3 minuten lang goed dooreen gewreven. De petroleumaether wordt afgeschonken en deze bewerking met een even groote hoeveelheid petroleumaether nog eens herhaald. Is in de afgegoten petroleumaether nog een positieve reactie van Schlesinger aantoonbaar, dan wascht men nog eens met petroleumaether uit. Dit herhaalde uitwasschen van de faeces dient om het indol en skatol uit de faeces, die (altijd volgens Adler) ook een positieve reactie van Schlesinger geven, te verwijderen. Dat, wat overblijft, wordt samengewreven met een mengsel van 10 c.c. alcohol absolutus, 1 G. zinkacetaat en 3 druppels tinctura-iodii; daarop volgt filtratie. Het filtraat wordt verder behandeld, zooals voor 't filtraat bij de urine is besproken. Hij vindt als normaal 120—200 mG. urobiline per 100 G. faeces. Hier zij opgemerkt, dat het indol en skatol geen reactie van

Schlesinger geven en verder, dat met dat herhaalde uitwasschen der faeces met petroleumaether niet alleen 't indol en skatol wordt verwijderd, maar ook het urobilinogeen. Het grootste deel van de urobiline gaat dus verloren. Dat Adler toch goede waarden krijgt, komt door zijn methode, die al bij de urine een veel te groote hoeveelheid urobiline aantoont (volgens onze bepalingen 20 à25 maal te groot).

We hebben reeds eerder gezien, dat ook Peters van een fluorescentie-methode gebruik maakt en dit waarneemt door in een donker kastje scherp licht op de te onderzoeken vloeistof te laten vallen.

Wat het groote nadeel van deze fluorescentie-methode is, dat is de sterke subjectieve factor, die hierbij een rol speelt en die tot grove fouten leiden moet. Wanneer een fluorescentie er nog wel even is en wanneer verdwenen, is uiterst moeilijk uit te maken. Wat geëischt moet worden bij ons klinisch laboratoriumwerk, dat zijn objectieve methoden en zeker zal dat noodig zijn, wanneer we quantitatieve bepalingen willen doen.

Wat verder alle methoden, die daarop berusten, dat ze het urobilinogeen in urobiline overvoeren, gemeen hebben, is, dat het zoo moeilijk uit te maken valt, wanneer alles in urobiline is overgegaan. Er is reeds gewezen op de kans van vernietigen van de urobiline bij de bewerkingen, die urine en faeces moeten ondergaan, voor de urobiline quantitatief te bepalen is, ook op den grooten subjectieven factor, die bij het waarnemen van den nog juist even zichtbaren urobilineband een rol speelt.

Het behoeft daarom geen verwondering te wekken, dat er gezocht werd naar een methode, die een of meer van deze nadeelen zou ontgaan. Een heel nieuw geluid deed dan ook Charnas hooren, toen hij voorstelde niet de urobiline, maar het urobilinogeen te bepalen. In tegenstelling met wat tot nu toe steeds was gebeurd, dat men een methode uitdacht om de urobiline van de urine quantitatief te meten en deze daarna ook toepaste op de faeces, begon Charnas met een methode voor de faeces aan te geven. Hier was zijn principe immers het allermaklijkst door te voeren; met de faeces komt de urobiline uitsluitend als urobilinogeen te voorschijn. Vangen we de faeces nu zoo op, dat dit urobilino-

geen niet tot urobiline worden kan, dan is het heel wat maklijker en rationeeler om deze stof te bepalen. De methode van Charnas voor de faeces is nu aldus: de faeces van 24 uur worden opgevangen in glazen receptacula, die met zwart papier omhuld zijn; deze faeces worden zoo spoedig mogelijk verwerkt. De ontlasting wordt bij kunstlicht gewogen, saamgewreven en goed gemengd. Hiervan wordt 10 G. in een schaal gewogen, met warme 1 % wijnsteenzuur bevattende 95 % alcohol langzaam gewreven en dit alcoholische extract in een kolf van ± 300 c.c. inhoud gebracht; dit wordt op een waterbad ± 1 minuut voorzichtig gekookt, daarna gefiltreerd in een zuigkolf; men wascht het filter na met de 1 % wijnsteenzuur bevattende 95 % alcohol tot de aldehydreactie verdwenen is. Men heeft gewoonlijk niet meer dan 150 c.c. alcohol noodig. Men doet nu bij het alcoholische extract een evengroote hoeveelheid van een 20 % ammoniumsulfaatoplossing, maakt met NaOH alkalisch en trekt uit met 250—300 c.c. zuivere aether. De waterige alcoholische laag wordt met wijnsteenzuur sterk zuur gemaakt en met 250—300 c.c. aether geëxtraheerd. De aether wordt met kleine hoeveelheden water gewasschen en met alkalivrije Na_2SO_4 oppervlakkig gedroogd. Men doet bij 10—20 c.c. van dit extract wat droog p-dimethylamidobenzaldehyd, dampt in op waterbad tot 1 c.c., doet er 3 à 4 druppels HCl 38 % bij (Sg. 1.19), schudt eenigen tijd en verdunt voldoende met alcohol. De zoo verkregen roode oplossing, die slechts één streep geven mag, λ = 550—570, wordt spectrophotometrisch onderzocht en het gehalte aan urobilinogeen der gebruikte faeces met inachtneming van de verdunning en van de door Charnas gevonden absorptieverhouding A = 0.00001 berekend.

Men moet snel en goed werken, liefst in het donker. Ontlasting, die in zure gisting is, is onbruikbaar, omdat 't urobilinogeen daarin verwoest wordt; ook diarrhoische ontlasting gebruike men niet. Door het zuurmaken en koken gaat natuurlijk een deel van het in de ontlasting aanwezige urobilinogeen in urobiline over. Charnas vond dat zoo 10 % verloren gaat. Om deze fout te ontgaan, neemt hij in plaats van absorptieverhouding A = 0.000009, zooals de berekende waarde is, A = 0.00001.

Met deze methode werkende heeft E p p i n g e r als normale waarde in de ontlasting van gezonde personen gevonden 0.13 G. urobilinogeen per dag.

De alkalische aetherextractie, die de zure voorafgaat, dient om het indol, skatol, pyrrolen en geneesmiddelen, die ook de aldehydreactie geven, te verwijderen.

Een nadeel van de methode is natuurlijk, dat de ontlasting, die veel urobiline bevat, 't zij door ondoelmatig bewaren of door zure reactie, feitelijk voor de bepaling onbruikbaar is.

Een ander nadeel is het gebruik van den spectrophotometer. Aan deze moeilijkheid is tegemoet te komen door het zure aether-extract verder te behandelen, zooals dat het gebruik is bij de weldra te bespreken colorimetrische methode van T e r w e n; ook behoeft men niet, gelijk C h a r n a s doet, met die groote hoeveelheden aether te werken, 't geen de methode vrij kostbaar maakt. De vereenvoudigde *Charnas-Terwen-methode* is nu als volgt: van de gedurende 24 uur buiten het licht opgevangen en bewaarde faeces neemt men, na ze goed te hebben fijn gewreven en gemengd, 5 G.; men emulgeert met eenige c.c. aqua destillata, tot de faeces een zalfachtige consistentie hebben en doet er dan langzaam bij 75 c.c. van een 1 % wijnsteenzuren alcohol 95 % (1 dl. wijnsteenzuur, 100 dl. alcohol 95 %). Daarna kookt men gedurende één minuut op een waterbad en filtreert men door een porceleinen filter in een zuigkolf. Het residu overgiet men met warmen 1 % wijnsteenzuren alcohol tot deze helder doorloopt en geen aldehydreactie meer geeft, ten bewijze, dat er geen urobilinogeen meer uitgetrokken wordt. We vullen het filtraat, zoo deze hoeveelheid nog niet is bereikt, ('t geen meestal wel het geval is) met den wijnsteenzuren alcohol aan tot een rond getal, b.v. 100 of 120 c.c.

Van dit filtraat nemen we 15 c.c. en doen er bij 15 c.c. van een 20 % $(NH_4)_2SO_4$ oplossing en daarna zooveel Na OH tot de reactie alkalisch is. In een scheitrechter wordt er nu 30 c.c. aether bij gedaan en geschud. We krijgen dan twee lagen, de waterig-alcoholische en een lichtgeel gekleurde bovenste aetherlaag. Het waterig-alcoholisch extract wordt nu zuur gemaakt met 20 % wijnsteenzuur en uitgeschud met 30 c.c. aether. Dit eenmaal uitschudden is gebleken voldoende te zijn; schudde men voor een tweeden keer uit met 30 c.c.

aether, dan bleek er geen urobilinogeen meer in aantoonbaar te wezen. Bij 10 c.c. van deze aether doet men het p. dimethylamidobenzaldehyd en HCl 38% en schudt 't urobilinogeen uit, dat men bepaalt langs colorimetrischen weg op de nog nader te bespreken wijze. Op deze wijze werkende vonden wij waarden, bij normalen en zieken, die niet overeenkwamen met de daarover bestaande gegevens in de litteratuur. Zoo vonden we al in den beginne bij een normaal persoon in de faeces van 24 uur 11 mG. urobiline, terwijl met de straks te bespreken methode van T e r w e n 207 mG. gevonden werd; bij iemand met een haemolytischen icterus, die dus veel urobiline met de faeces uitscheidt, vonden we 0.367 G. Het werd ons weldra duidelijk, dat er een fout gemaakt werd, die lag, òf in onze techniek òf in de methodiek. Waar precies het voorschrift van C h a r n a s gevolgd werd, kon in de wijze van uitvoeren geen fout zitten; er moest dus gezocht worden, of in de methodiek zelve soms de oorzaak van de te kleine waarden lag en de aandacht vestigde zich weldra op het alkalische aetherextract. Doet men bij een bepaalde hoeveelheid van dit extract een even groote hoeveelheid van een alcoholische zinkacetaatoplossing en filtreert, dan is er geen fluorescentie in 't filtraat, noch wordt het spectrum er door veranderd. Voegt men echter bij dit filtraat één druppel tinctura-iodii, dan komt er een sterke fluorescentie en een zeer scherpe urobilineband in het spectrum. Het alkalische aetherextract bevat dus nog zeer veel urobilinogeen. Maakt men dit alkalische aetherextract zuur met 20 % wijnsteenzuur, dan komt er een wit neerslag, dat men weg laat vloeien. Bij 10 c.c. van de bovenstaande aether voegt men nu 't benzaldehyd en het HCl, dan is het urobilinogeen, gebonden aan het benzaldehyd, duidelijk aantoon- en meetbaar. Dat men niet met indol en skatol te doen heeft, weet men zeker, als men de methode van T e r w e n gebruikt; trouwens in 't spectrum ziet men slechts een streep bij λ = 550—570, terwijl 't indol en skatol zich zouden verraden door een tweede streep in het groen. Telt men de waarden, gevonden voor 't urobilinogeen in 't zure en in het alkalische aetherextract samen, dan komt men tot een getal, dat meer met de werkelijkheid overeenkomt. In de hieronder volgende tabel vindt men de waarden voor 't urobilinogeen

gevonden in het zure- en in het alkalische aetherextract bij eenige normale personen en zieken samengevoegd.

Tabel I.

	Urobilinogeen in 't zure aetherextract.	Urobilinogeen in 't alkalische aetherextract.	Gezamenlijke Urobilinogeen waarde.
1. Normaal	33.5 mG.	166 mG.	199.5 mG.
2. Haemol. icterus	367.2 „	768 „	1135.2 „
3. Malaria	231.2 „	230.4 „	461.6 „
4. Pern. anaemie	365.4 „	456.7 „	822.1 „
5. Decomp. cordis	30.2 „	143.6 „	173.8 „
6. „ „	171.4 „	305.5 „	476.9 „
7. Pern. anaemie	62.2 „	191 „	253.2 „
8. Haemol. icterus	28.2 „	1190 „	1218.2 „
9. Decomp. cordis	32.4 „	259 „	291.4 „
10. Pern. anaemie	317.9 „	383.8 „	701.7 „
11. Normaal	32.4 „	135 „	167.4 „
12. Normaal	14.3 „	23 „	37.3 „

Men ziet uit deze cijfers wel zeer duidelijk, welk een groote fout men maakt, wanneer men het alkalische aetherextract verwaarloost.

Deze methode van Charnas is ook gebruikt door Hueck en Brehme bij hunne urobilinogeen-bepalingen. Ze volgden precies de wijze van werken van Charnas en vonden dan bij normalen gemiddeld per dag 61 mG. In de volgende tabel zijn hun cijfers samengevat:

	Hoeveelheid urobilinogeen per dag
1. Normaal	41 mG.
2. „	81 „
3. Pern. anaemie	73 „
4. „ „	106 „
5. Haemol. icterus	41 „
6. „ „	27 „
7. Gravida	24 „

Deze lage waarden schrijven zij toe aan hun manier van rekenen. De beide schrijvers meenen, dat Charnas en

Eppinger fouten maken in de berekening en dat zij het goed doen. Rekenen zij gelijk Charnas het doet, dan vinden ze ook zijn waarden.

Hun onderzoek is zeer gebrekkig geweest; hun waarnemingen strekten zich meestal maar over één dag uit in plaats van over een 7 à 10 dagen. De lage waarden bij haemolytischen icterus en pernicieuse anaemie kunnen daardoor toevallig zijn, de patienten zouden b.v. op den dag van 't onderzoek weinig defaecatie kunnen hebben gehad. In elk geval maakt het, dat men dit onderzoek als zeer oppervlakkig en onbetrouwbaar moet opvatten; maar de vraag blijft: hoe komt Charnas aan zijn hooge waarden, terwijl hij een deel van het urobilinogeen niet meet?

De methode van Charnas is mijns inziens bij onderzoek gebleken betrouwbaar te zijn en bruikbaar voor de kliniek, mits men ook het urobilinogeengehalte bepaalt van het alkalische aetherextract en in de methode de wijziging van Terwen aanbrengt. Dan is de bepaling betreklijk eenvoudig en vordert niet veel tijd, vooral omdat de scheiding in een zure en alkalische extractie geen zin meer heeft en we dus direct de zure extractie kunnen toepassen. Met de methode Terwen hebben we immers van de indolachtige lichamen — waarvoor Charnas zijn alkalische aetherextractie invoerde — geen last meer.

't Lag voor de hand, dat Charnas probeeren zou zijn methode ook op de urine toe te passen. Het was alleen maar de kunst de urobiline te reduceeren tot urobilinogeen. Hij bracht daarvoor de urine in alkalische gisting, zag daarbij de urobiline verdwijnen en het urobilinogeen toenemen. Brugsch en Retzlaff, op deze wijze werkende, bemerkten, dat naast het urobilinogeen in de urine nog een stof te isoleeren was, die zich eveneens met p-dimethylamidobenzaldehyd rood kleurde en die vermoedelijk uit indolachtige lichamen bestond. Daarom extraheeren zij de vergiste urine bij alkalische reactie zoo lang met ligroïne tot het extract de Ehrlichsche reactie niet meer geeft.

De zgn. „biologische reductie" wordt door hen nu als volgt in de urine uitgevoerd: de urine wordt door toevoeging van sediment van een andere reeds in gisting zijnde urine en van ammoniumcarbonaat in gisting gebracht. Deze gisting

gebeurt bij 37° in den broedstoof gedurende 2 dagen. Deze alkalische urine wordt op de juist beschreven wijze met ligroïne geëxtraheerd, daarna wordt ze aangezuurd met wijnsteenzuur en 20 à 30 cc. er van met aether, waarin het urobilinogeen overgaat, uitgeschud. Dan doet men er het Ehrlichsche reagens bij en bepaalt het urobilinogeen spectrophotometrisch of men laat door belichten urobiline ontstaan en bepaalt het dan gewichtsanalytisch.

Brugsch en Retzlaff bepaalden de urobiline in de ontlasting op de volgende wijze: faeces van 24 uur wordt met water samengewreven en zoo gebracht op een volumen van 1000—2000 cc. De massa wordt, zoo ze nog niet alkalisch is, met ammoniumcarbonaat alkalisch gemaakt. 20 tot 50 G. van deze massa wordt met ligroïne geschud om hen van de indolachtige lichamen te bevrijden. De ontlasting wordt nu zuur gemaakt met wijnsteenzuur en in scheitrechters geëxtraheerd met 100 tot 200 c.c. azijnaether.

Bij die azijnaether komt 2 c.c. van een oplossing van het benzaldehyd in aether en 3 à 4 druppels HCl 38% en er wordt krachtig geschud. De gevormde kleurstof neemt men in water op en bepaalt het urobilinogeen of spectrofotometrisch of colorimetrisch; in het laatste geval gebruikt men een oplossing van 0.1 $^{0}/_{00}$ bordeauxrood als vergelijkingsvloeistof.

De methode van de biologische reductie vordert eenigen tijd (1 à 2 dagen). Het ergste is wel, dat ze onbetrouwbaar is; niet alleen, dat men telkens moet nagaan of de urobiline werkelijk verdwenen is, maar volgens onderzoekingen van Wilbur and Addis worden bij deze wijze van reductie zoowel urobiline als urobilinogeen gedeeltelijk verwoest en ontsnappen dus aan de bepaling. Voor de urine is deze quantitatieve methode niet geschikt, terwijl voor de faecesmethode 't bezwaar geldt, dat door 't herhaalde uitschudden met ligroïne een deel van het urobilinogeen verloren kan gaan.

Over de nadeelen van de methode van Charnas, zooals deze voor de faeces is uitgewerkt, is reeds geschreven; vooral het feit, dat, wanneer het urobilinogeen eenmaal is overgevoerd in urobiline, dit aan de verdere bepaling ontsnapt, weegt zwaar.

Een methode, die vele van de genoemde nadeelen uit den weg gaat, daarbij eenvoudig en doeltreffend is en geen kostbaar instrumentarium vraagt, is de op het principe van Charnas berustende *colorimetrische urobilinogeenbepaling van Terwen*, die we in een volgend hoofdstuk uitvoerig zullen bespreken.

HOOFDSTUK IV.

De colorimetrische Urobilinogeenbepaling van Terwen.

Terwen ging bij zijn methode uit van de juistheid van het principe van Charnas, die het urobilinogeen in plaats van de urobiline bepaalde. Waar èn in de faeces èn in de urine urobiline voornamelijk als haar chromogeen wordt uitgescheiden, had hij dus een werkwijze noodig, waarbij de door een of andere oorzaak gevormde urobiline weer tot urobilinogeen werd gereduceerd. Hij zocht voorloopig alleen naar een methode, die de urobiline in de urine kon meten en gebruikte als reductiemiddel waterstof in statu nascendi; toen dit geen voldoende resultaten gaf: magnesiumpoeder + zuur, dat een snelle reductie geeft. Het „urobilinogeen", dat op deze laatste wijze ontstaat, behoeft echter slechts even krachtig met lucht te worden geschud om de urobiline weer te voorschijn te doen roepen, zoodat er van een quantitatief uitschudden van urobilinogeen met aether geen sprake kan zijn.

In de richting van alkalische reductie dreef hem een proef met hydrochinon + natronloog, en zoo kwam Terwen er ten slotte toe, naar aanleiding van de methode om nitrobenzaldehyd in amidobenzaldehyd over te voeren door voorzichtige reductie met ferrosulfaat en alkali (zie Wolfrum, Chemisches Praktikum) deze voor de urobiline toe te passen, wat hem na lang zoeken de gewenschte oplossing van het lastige vraagstuk bracht.

Als ijzerzout gebruikt hij Mohr's zout, ijzeroxyduulammoniumsulfaat.

Brengt men in urine Mohr's zout en natronloog, dan wordt

alle daarin aanwezige urobiline gereduceerd tot urobilinogeen, waarbij 't ferrohydroxyde in het ferrihydroxyde overgaat. Dat de reductie tot stand gekomen is kan men spectroscopisch nagaan; de vóór de reductie aantoonbare urobilineband is verdwenen. Doet men bij de gereduceerde vloeistof het reagens van Schlesinger, dan komt er geen fluorescentie, wèl als men er een druppel tinct. iodii naderhand bijvoegt.

Toen de moeilijkheid van het vinden van een goede reductiemethode overwonnen was, moesten de voorwaarden worden opgespoord, noodig voor het verkrijgen van een maximale opbrengst aan kleurstof, na toevoeging van het Ehrlich'sche reagens.

Charnas had toch reeds opgemerkt, dat met de klassieke Ehrlich'sche reactie een groot deel van het urobilinogeen onder invloed van het sterke zoutzuur in urobiline overgaat. Hij wijzigde daarom deze methode als volgt: 10 à 20 c.c. urine worden met wijnsteenzuur zuur gemaakt en met 20 à 30 c.c. zuivere aether krachtig geschud. Bij het aetherextract doet men een kleine mespunt van het p.-dimethylamidobenzaldehyd, dat oogenblikkelijk in oplossing gaat. Dan voegt men 5 druppels zuiver rookend zoutzuur toe of, liever nog, met zoutzuurgas verzadigden alcohol. Doet men er nu een kleine hoeveelheid water bij, dan komt een mooie violette verkleuring te voorschijn.

Het bleek Terwen evenwel mogelijk het lastige HCl-alcoholreagens te vervangen door HCl 38% (SG. 1.19) en de kleurstof met water uit te schudden, zonder dat er een omzetting in urobiline plaats heeft (zonder dat er dus twee absorptiestreepen optreden). Daarvoor is het noodig, dat men het reactieproduct slechts kort, niet langer dan hoogstens twee minuten, met het zoutzuur in aanraking laat en dit zuur dan door snel een verzadigde oplossing van natriumacetaat toe te voegen in azijnzuur omzet, dat niet meer schadelijk is. Daarbij gaat dan tevens het aldehyd weer in den aether van het extract (van urine of faeces) over. Het natriumacetaat heeft tevens de eigenschap om de roode kleur, die ontstaat door de verbinding, die het indol en skatol met het aldehyd aangaan, te doen verdwijnen; de roode kleur, die overblijft, is dus alleen afkomstig van de

urobilinogeen-aldehydverbinding. Na opnemen van de kleurstof in water en aftappen hiervan, kan de aether opnieuw met HCl geschud worden om de laatste resten van het urobilinogeen alsnog aan de reactie te doen deelnemen; ook daarna moet weer natriumacetaat worden toegevoegd.

Is bij een geringe urobilinogeenconcentratie het eindvolumen der gekleurde vloeistof klein en wordt daardoor de bijtint van het mede in water opgeloste aldehyd storend, dan moet de vloeistof door uitschudden met verschen aether van dit aldehyd bevrijd worden.

Toch komt het ook bij goede reductie voor, dat een geheel kleurloos aetherextract slecht of zelfs in het geheel niet met het Ehrlich's reagens wil reageeren en in plaats van de mooie paarse eindkleur een roodachtige tint ontstaat, blijkens spectroscopisch onderzoek aan urobiline toe te schrijven. De storende oxydeerende stof, die dan blijkbaar in de urine aanwezig is en waarop G r o s z m a n n en S t e e n s m a de aandacht vestigden, is dan in den aether mede overgegaan; ze is daar bijna altijd uit te verwijderen door dien aether viermaal met kleine hoeveelheden water uit te schudden.

Er blijven echter enkele urines over, waar ook dit redmiddel niet helpt en daarvoor wordt dan petroleumaether gebruikt, waarin urobilinogeen wel, urobiline niet oplost. Men krijgt dan goede resultaten en het viermaal uitwasschen is overbodig. Een nadeel van deze petroleumaether-methode is, dat het volumen van het extract twee maal zoo groot is en zelfs nog eens verdubbeld moet worden vóór de aldehydtoevoeging en wel door bijvoegen van een gelijk volumen aether, daar zonder deze kunstgreep het gekleurde condensatieproduct tijdens het schudden tezamen met het aldehyd neerslaat met belangrijk verlies in de uitkomst.

De aether, dien men gebruikt, moet vooraf gewasschen worden met 30 % Na OH eenmaal en daarna nog drie keer met aqua destillata.

Als vergelijkingsstandaard gebruikt T e r w e n een oplossing van phenolphthaleine in soda. De bereiding heeft aldus plaats: bij 5 c.c. van een verzadigde soda-oplossing (19 % carbonas natricus anhydricus) voegt men 50 c.c. uitgekookte aqua destillata, daarna 1 c.c. van een 0.05 % oplossing van

phenolphthaleine in alcohol 96 % en vul met uitgekookte aqua destillata aan tot 100. Deze oplossing, die elken dag versch bereid moet worden, gaat in de wig van den colorimeter.

Terwen neemt aan, dat de gekleurde eindvloeistof overeenkomt met een urobilinogeenconcentratie daarin van *één Eenheid*, wanneer de kleur er van gelijk is aan de op bovenstaande wijze bereide phenolphthaleine standaardoplossing. De concentratie van een dergelijke oplossing bedraagt 0.4 mG. *urobiline* per 100 c.c. vloeistof; urobiline en niet urobilinogeen, omdat bij de standaardbepalingen 't als zoodanig is bepaald.

Deze waarde kan men bepalen door groote hoeveelheden urobilinerijke urine of faeces op de bovenaangegeven wijze te reduceeren tot alle urobiline urobilinogeen geworden is; dit urobilinogeen met petroleumaether uit de vooraf zuur gemaakte vloeistof te extraheeren en dit extract aan het licht bloot te stellen, waardoor 't urobilinogeen in de urobiline overgaat; dit slaat neer en kan gewogen worden. Hebben we nu vooraf 't getal eenheden van het petroleumaetherextract voor de belichting bepaald, dan komt dat getal eenheden met de gewogen hoeveelheid neergeslagen urobiline overeen.

We zullen nu overgaan tot de beschrijving van de methodiek.

Bepaling in de urine.

De urine van 24 uur wordt in een donkere flesch verzameld en buiten het licht bewaard. Ter conserveering van de urine doet men in een flesch van 2 Liter 10 c.c. van een verzadigde alcoholische oplossing van acidum salicylicum. Nadat de voor de reductie benoodigde hoeveelheid urine uit de flesch genomen is, kan men de totale hoeveelheid urine meten.

Het reductieproces.

Breng 80 c.c. urine in een bekerglas of in een Erlemeyersche kolf en pipetteer er bij 20 c.c. eener versch bereide

16 % oplossing van Mohr's zout. Daarna druppelt men uit een pipet onder voortdurend ronddraaien der vloeistof in het bekerglas of kolf 20 c.c. eener 12 % oplossing van natronloog en giet dan de groentroebele vloeistof onmiddellijk over in een flesch, die men zoo vol giet, dat de stop zonder luchtbellen er op geplaatst kan worden, waarna men het geheel tot den volgenden dag in het donker wegzet. Is het neerslag bezonken, dan kan men de bovenstaande heldere vloeistof spectroscopisch onderzoeken om vast te stellen, dat de reductie bevredigend is verloopen, dus geen urobilineband meer te zien is. Dit behoort men bij elke bepaling te doen.

De filtratie.

Men filtreert de vloeistof door een droog, zuiver filter (Schleicher und Schüll) in een bruin fleschje en onderbreke de bepaling verder niet meer, daar door licht en zuurstof het urobilinogeen langzaam weer in urobiline overgaat.

De verdere behandeling hangt nu er van af, of men met aether, dan wel petroleumaether extraheert. De standaardmethode is die met aether. Zij volgt hier:

De bepaling.

Pipetteer 20 cM^3. van het filtraat in een scheitrechter en maak dit met 4 à 5 cM^3. 20 % wijnsteenzuur flink zuur. Controleer met behulp van lakmoespapier, dat de vloeistof werkelijk zuur is. Doe er daarna 40 cM^3. gereinigden aether bij en schudt een 50 à 60 keer. (Schudt men te lang en te krachtig, dan kan het tot emulsievorming komen, een verschijnsel, dat slechts zelden optreedt). Heeft men een 25 à 30 keer geschud, dan late men den overdruk door de kraan uit. Na de scheiding van de lagen tapt men de onderlaag af.

De aether wordt nu vier maal telkens met eenige cM^3. gedestilleerd water uitgeschud; men late het water telkens zoo volledig mogelijk afvloeien. Is dit wasschen afgeloopen, dan doet men 30 cM^3. van den aether in een drogen, schoo-

nen scheitrechter, voegt er aan toe 3 cM^3. van een verzadigde oplossing van paradimethylamidobenzaldehyd (Merck) in gereinigden aether, mengt en druppelt daarbij 10 druppels HCl 38 % (SG. 1.19), waarna men onmiddellijk gedurende anderhalve minuut krachtig schudt. Na 't schudden spuit men zoo snel mogelijk eenige cM^3. gedestilleerd water er bij, schudt eenige malen krachtig en voegt dan snel toe 3 cM^3. van een verzadigde natriumacetaatoplossing. Er wordt weer krachtig geschud; wie hier goed toekijkt, ziet nu menigmaal hoe de intensiteit van de kleur der roode vloeistof meer of minder vermindert; het is de roode kleur, door indolachtige lichamen veroorzaakt, die verdwijnt. De onderstaande paarse vloeistof wordt nu afgetapt, de aether met een paar cc. water nagewasschen en dit laatste bij de hoofdportie gevoegd.

In den aether bevindt zich nu nog een geringe hoeveelheid urobilinogeen, dat nog niet gereageerd heeft. Verlangt men een nauwkeurige bepaling, dan moet men den aether opnieuw met 5 à 10 druppels HCl schudden, gedurende 1 à 1½ minuut, weer water en 1½ à 3 c.c. Na-acetaat toevoegen en de gekleurde onderlaag met de hoofdportie vereenigen. De ten slotte verkregen gekleurde eindvloeistof schudt men ter verwijdering van het aldehyd één maal met verschen aether uit. De nu verkregen roode vloeistof mag spectroscopisch maar één band geven bij $\lambda = 550—570$.

Naar gelang van de intensiteit der kleur wordt de eindvloeistof in een maatglas zoo ver verdund met water, dat haar kleur, als ze in de cuvet van den colorimeter is gedaan, zwakker is, dan die van de standaardoplossing in de wig.

De eindvloeistof mag spectroscopisch hoogstens een uiterst zwakke streep vertoonen op de urobiline-plaats. Is die streep wel duidelijk, dan is òf de reductie niet volledig geweest òf er heeft tijdens het schudden met HCl reoxydatie plaats gevonden. Heeft men geen fouten gemaakt, die dit laatste verklaren kunnen (te korte reductietijd, ongereinigde aether, ongewasschen aetherextract) dan kan het noodig zijn de bepaling te herhalen met petroleumaether in plaats van aether.

Bij de extractie met petroleumaether neemt men op 20 filtraat, 80 c.c. petroleumaether en brengt na schudden

60 cM^3. extract in een schoone scheitrechter. Het uitwasschen met water is nu overbodig, wel is noodig nog 60 cM^3. gereinigden aether toe te voegen. Men neemt verder 4 c.c. aldehyd en 12 druppels HCl 38 % en schudt uit. Daarna wordt nog eens voor de 2e maal uitgeschud met 6 à 12 druppels HCl.

Soms gebeurt het, dat men geen volledige reductie krijgt als de hoeveelheid urobiline in de urine te groot is; om de reductie dan toch volkomen te laten verloopen, moet men meer Mohr's zout en meer natronloog gebruiken, b.v. bij 80 c.c. urine 40 c.c. 16 % opl. van Mohr's zout en 40 c.c. 12 % NaOH.

Berekening.

Bij de berekening van de hoeveelheid urobiline, die in de totale hoeveelheid urine van 24 uren zit, moet men natuurlijk de verdunningen in aanmerking nemen, die het materiaal heeft moeten ondergaan om tot de gekleurde eindvloeistof te geraken.

In de urine is één eenheid urobiline, wanneer van 10 $cM.^3$ urine na de geheele bewerking een eindvolume is verkregen van 10 cM^3. gekleurde vloeistof en deze vloeistof van gelijke kleurintensiteit is met de standaardoplossing.

We gaan uit van 80 c.c. urine, waarbij komt 20 c.c. ijzeroplossing en 20 c.c. loog. In 20 c.c. van het filtraat dat we voor de bepaling gebruiken, zit dan $\frac{80}{6}$ $cM.^3$ urine.

Het urobilinogeen van die 20 c.c. filtraat wordt opgenomen in 40 c.c. aether. Van dien aether gebruiken we voor de bepaling 30 c.c., d.i. het ¾ deel. We bepalen dus de hoeveelheid urobilinogeen, die zit in $^3/_4 \times \frac{80}{6}$ $M.^3$ urine, dat is in 10 cM^3. urine. Krijg ik hier een eindvloeistof van, die 10 cM^3. groot is en komt de colorimeter na vulling van de cuvet met deze vloeistof juist op nul, dan bevat die vloeistof één eenheid. Moet ik echter de eindvloeistof verdunnen tot 35 en komt de coloriemeter daarbij op 20 te staan, dan bevat

die 10 c.c. urine $\frac{35}{10} \times \frac{100 - 20}{100} \times 1$ eenheid = 2.8 eenheid urobiline.

Een eenheid is 0.4 mG. urobiline per 100 cM.^{3} vloeistof.

Heeft iemand nu 1000 cM^3. urine in de 24 uur geloosd, is bij hem de eindvloeistof verdund tot 35 en komt de colorimeter daarbij op 20 te staan, dan is de totale hoeveelheid urobiline in die 1000 c.c. urine, die we door H zullen voorstellen:

$$H = \frac{1000}{100} \times \frac{35}{10} \times \frac{100 - 20}{100} \times 0.4 \text{ mG. urobiline.}$$

Er zij hier nadrukkelijk op gewezen, dat elke colorimeter geijkt moet worden voor een bepaalde wig en bepaalde cuvet. Doet men dit niet, dan komt men tot verkeerde uitkomsten. Het beste doet men dit met een oplossing van ¼ N. kaliumbichromaat. Deze oplossing gaat in de wig; in de cuvette komt eerst de ¼ N kaliumbichromaat, daarna een vloeistof, die bevat 9 dl. van de kaliumbichromaatoplossing en 1 dl. water, daarna 8 dl. van de gekleurde stof en 2 dl. water enz. Men construeert een curve, waarbij men op de ordinaat zet de colorimeter-graden en op de abscis de verdunningen. Uit de colorimetergraden, die men bij elke verdunning vindt, kan men de curve construeeren.

Bepaling in de faeces.

Toen het T e r w e n eenmaal gelukt was zijn methode voor de urobilinebepaling in de urine te voltooien en toen haar bruikbaarheid gebleken was, sprak het vanzelf, dat hij ook trachtte haar voor de urobilinebepaling in de faeces te gebruiken. Weldra kwam hij na eenig zoeken en probeeren tot het volgende resultaat: de gedurende 24 uur verzamelde en in 't donker bewaarde faeces worden gewogen en terdege gemengd, 't best in een mortier.

Hiervan weegt men 5 G. af. Van deze faeces maakt men met 50 G. gedestilleerd water een emulsie. Hier komt het erg op aan; men begint daarom deze 5 G. faeces samen te wrijven met eenige cM.^{3} water tot ze een zalfachtige consistentie hebben gekregen en eerst daarna worden ze al

meer en meer verdund. Zijn ten slotte de faeces geworden tot een homogene emulsie, dan doet men er 50 cM^3. bij van een 16 % oplossing van Mohr's zout en pipetteert er daarna bij 50 cM^3. van een 12 % NaOH oplossing, terwijl men de vloeistof in de mortier met den stamper in draaiing houdt.

Dat draaien is daarom zoo noodig, omdat de vorming van het ijzerhydroxyde 't sterkst plaats heeft op het oogenblik, dat de loog in de ijzeroplossing komt. De thans ontstane emulsie wordt in een flesch gedaan, die men zoo vol maakt, dat de stop zonder luchtbellen er op geplaatst kan worden; deze flesch wordt in het donker bewaard. Het beste is, dat men, gelijk ik dat deed, 's middags de reductie inzet, haar den heelen nacht laat staan en dan den volgenden morgen de filtratie en bepaling doet. Het neerslag is dan bezonken en in de bovenstaande heldere vloeistof mag spectroscopisch geen urobilineband meer aanwezig zijn. Dan volgt de filtratie en onmiddellijk in aansluiting daaraan de bepaling, die aldus verloopt: pipetteer in een scheitrechter 2 $cM.^3$ van het filtraat, maak dit zuur met 1 $cM.^3$ 20 % wijnsteenzuur en doe er daarna 20 $cM.^3$ gereinigden aether bij; nu schudt men 50 à 60 keer; de beide vloeistoflagen scheiden zich en men laat de onderste afloopen. Van den aether, die niet gewasschen wordt, doet men nu 10 $cM.^3$ in een schoonen drogen scheitrechter, doet er 3 $cM.^3$ paradimethylamidobenzaldehyd en 10 druppels HCl 38 % bij en zondert het urobilinogeen af, als beschreven bij de urine. Juist hier heeft het toevoegen van het verzadigde natriumacetaat een groote beteekenis om de roode kleur door het indol en skatol veroorzaakt, te doen verdwijnen. De eindvloeistof zal hier meestal verdund moeten worden om een kleur te verkrijgen, zwakker dan die van de standaardoplossing. Bij zeer groote hoeveelheden urobiline kan dat wel 20 tot 30 keer bedragen.

De berekening houdt natuurlijk verband met de aangebrachte verdunningen. Nemen we als voorbeeld een normaal geval. Iemand produceert op een bepaalden dag 102 G. faeces. Na deze goed samengewreven en gemengd te hebben, wordt er 5 G. van afgewogen. Deze 5 G. wordt geëmulgeerd met 50 $cM.^3$ water, waarna er 50 $cM.^3$ ijzeroplossing

en 50 cM.^{3} natronloog bij wordt gedaan. Deze 5 G. is dus al 30 maal verdund. Van 't filtraat nemen we 2 cM.^{3}, die uitgeschud worden met 20 cM^3. aether, wat neer komt op een tienmalige verdunning van het urobilinogeen. Bij 10 cM.^{3} van het aetherextract wordt nu 3 c.c. aldehyd gedaan, 10 druppels HCl, geschud, 3 c.c. natriumacetaat toegevoegd en daarna de zoo ontstane kleur tot 25 cM.^{3} water aangevuld, hetgeen een verdunning van 2½ maal beteekent. Schenkt men de eindvloeistof in de cuvette, dan wijst de colorimeter 41 graden aan.

Wanneer men de faeces in dit geval dus verdunt 30 × 10 × 2.5 maal, verkrijgt men een eindvloeistof, die op den colorimeter het getal 41 aanwijst. Op de door ons vervaardigde curve vindt men dan niet als bijbehoorend getal 0.59, maar 0.67.

Uitgaande van onze kennis van wat een eenheid is, is de totale hoeveelheid urobiline, H, in deze 102 G. faeces:

$$H = \frac{102}{100} \times 30 \times 10 \times 2.5 \times 0.67 \times 0{,}4 \text{ mG. urobiline.}$$

Bij het gebruik van deze methode, doen zich natuurlijk eenige vragen voor, die vooral betrekking hebben op haar bruikbaarheid. Maar wat we ons eigenlijk 't eerst afvragen, is of er werkelijk reductie optreedt.

Deze vraag kan ik, krachtens mijn ervaring, met „ja" beantwoorden; bijna elke urobilinehoudene urine bleek na de reductie een „schoon" spectrum te hebben, waarin dus geen urobilineband aantoonbaar was. Sommige urobilinerijke urines vertoonden wel 't urobilinespectrum; voegde ik echter in zulke gevallen bij de 80 c.c. urine 40 c.c. van de ijzeroplossing en 40 c.c. van de loog, dan kwam de reductie wel tot stand. Men denke er om, dat men in zulke gevallen geen 20 cM.^{3} filtraat neemt, maar een hoeveelheid evenredig aan de grootere verdunning, opdat men ten slotte toch zijn bepaling in 10 cM^3. urine verrichte.

Dat er werkelijk reductie tot stand komt, kan men bij de urines op de volgende manier nagaan. Men kan n.l. 't urobilinogeen-gehalte van een urobilinerijke urine bepalen vóór

de reductie en daarna; 't verschil geeft dan aan de hoeveelheid gereduceerde urobiline. Bij een viertal urines is deze proef verricht.

Tabel II.

	Hoeveelheid urobiline in ongereduceerde urine	Hoeveelheid urobiline in gereduceerde urine	Verschil
1e	15.5 mG.	25.9 mG.	10.4 mG.
2e	14.5 „	20 „	5.5 „
3e	13.7 „	16.2 „	2.5 „
4e	17 „	18 „	1 „

Men kan de reduceerende kracht van het ijzerzout en loog ook aan de faeces nagaan door deze gedurende eenige dagen aan het zonlicht en de lucht bloot te stellen; dan is zeker wel alles in urobiline overgegaan, hetgeen met de reactie van Schlesinger en 't reagens van Ehrlich is na te gaan. Bewerkt men 5 G. van die ingedroogde faeces met water, ijzerzout en loog en een andere 5 G. alleen met water en loog, dan krijgt men duidelijke verschillen. Dit is voor een drietal faeces doorgevoerd.

Tabel III.

	Hoeveelheid urobiline in faeces -|- water -|- Fe -|- Na OH	Hoeveelheid urobiline in faeces -|- water -|- Na OH
1e	133 mG.	niets
2e	352 „	niets
3e	241 „	85 mG.

Dat men met de methode van Terwen een krachtige reductie tot stand kan brengen, staat dus buiten twijfel.

De tweede vraag, die men dient te stellen, luidt, of deze methode betrouwbaar is, en standvastige uitkomsten geeft.

Om dit na te gaan, bepaalde ik de hoeveelheid urobiline in een urine van 24 uur en daarna weer als er een even groote hoeveelheid aqua destillata was toegevoegd. In onderstaande tabel vindt men de uitkomsten vereenigd:

Tabel IV.

	Hoeveelh. urobiline in urine van 24 uur	Hoeveelh. urobiline in urine verdund met een evengroote hoeveelheid water	Theoretische te vinden hoeveelheid	Verschil
1e	8.7 mG.	4.9 mG.	4.35 mG.	0.55 mG.
2e	7.34 „	4.36 „	3.67 „	0.69 „
3e	15.36 „	8.1 „	7.68 „	0.42 „
4e	13.76 „	6.15 „	6.88 „	0.73 „

Men ziet dat de verschillen liggen binnen toelaatbare grenzen.

Aan de faeces is dit na te gaan door van eenzelfde 24-uur-hoeveelheid faeces twee verschillende porties van 5 G. te onderzoeken en daaruit de hoeveelheid urobiline voor de heele faecesmassa te berekenen.

Tabel V.

	Hoeveelheid urobiline volgens 1e portie van 5 G.	Hoeveelheid urobiline volgens 2e portie van 5 G.	Verschil
1	31.9 mG.	31.9 mG.	—
2	1235 „	1235 „	—
3	665 „	665 „	—
4	495 „	518 „	23 mG.
5	448 „	426 „	22 „
6	94 „	100 „	6 „
7	86 „	89 „	3 „
8	135 „	117 „	18 „
9	536 „	554 „	18 „
10	1728 „	1656 „	72 „
11	61 „	61 „	—
12	432 „	432 „	—
13	344 „	314 „	30 mG.
14	45 „	49 „	4 „
15	2600 „	2450 „	150 „

Ik meen, dat we uit deze tabel kunnen besluiten, dat de betrouwbaarheid van deze methode groot is.

Een andere vraag, die zich voordoet, of er bij de reductie ook urobiline verwoest wordt, zou men aan de hand van tabel II ontkennend moeten beantwoorden. Toch komt het een enkelen keer voor; zoo vond ik éénmaal in een urine vóór de reductie 17.8 mG. urobiline en na de reductie 14.6 mG.

Het verlies was maar weinig en vaker heb ik het niet gevonden, zoodat ik meen, dat we daar praktisch bij deze methode geen rekening mee behoeven te houden.

Dat er bij de bewerking een deel van het urobilinogeen in urobiline overgaat, valt niet te ontkennen. Slechst zelden ziet men, dat de roode kleurstof uitsluitend een band op de plaats van het urobilinogeen geeft; een zeer zwakke streep is meestal op de urobilineplaats te vinden; hoe beter men de methode beheerscht, hoe sneller men weet te werken, hoe minder last men van die urobilinevorming hebben zal.

Feitelijk behoort men dergelijke bepalingen in een donkere kamer bij kunstlicht te verrichten, maar niet ieder laboratorium zal daarop ingericht zijn; 't verlies is daarbij spectroscopisch gezien zoo gering, dat men de bewerking gerust in een ruimte met diffuus daglicht kan volbrengen.

Van de bestaande en in hoofdstuk III besproken methoden is er geen, die uitmunt door zulk een eenvoud en door zulk een betrouwbaarheid als deze colorimetrische urobilinogeenbepaling van T e r w e n ; zij is daarmee gestempeld als een voor de kliniek bruikbare werkwijze, welker techniek een ieder, die quantitatieve urobiline-bepalingen wil doen, zich zal hebben eigen te maken.

Met deze methode van T e r w e n zijn door mij bij een aantal normale personen urobilinebepalingen gedaan in de urine en in de faeces. In de urine is de urobiline meestal slechts in sporen aanwezig, de hoogste gevonden waarde in de daghoeveelheid was 1 mG. Deze waarde is dus heel veel lager dan de tot heden gevondene; M ü l l e r vond immers tot 20 mG., S a i l l e t van 30—130 mG. en A d l e r van 20 tot 25 mG.; alleen B r u g s c h en R e t z l a f f konden slechts sporen urobiline in de urine aantoonen.

Wil men een inzicht krijgen in de hoeveelheid urobiline, die iemand naar buiten voert met zijn faeces, dan is het noodzakelijk, dat men die bepalingen een dag of zes achtereen verricht; het is noodig, dat het op elkaar volgende dagen zijn, omdat de eene dag de hoeveelheid ontlaste faeces niet alleen veel geringer kan zijn dan de andere, maar ook, omdat de hoeveelheid uitgescheiden urobiline b.v. omgerekend op 100 G. faeces, elken dag wisselen kan. De hieronder te vermelden waarden zijn gemeten bij assistenten van het Binnengasthuis, bij studenten en bij patienten, die voor afwijkingen van het perifere zenuwstelsel waren opgenomen. Men vindt telkens vermeld de dagelijksche hoeveelheid faeces in Grammen en de daarin gevonden hoeveelheid urobiline in mG., terwijl tevens aangegeven is de gemiddelde, dagelijksche urobiline-uitscheiding en deze omgerekend is op 100 G. faeces.

Tabel VI.

No. 1. Observatie neurasthenie.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	120	89
2e „	100	135
3e „	70	109
4e „	62	60
5e „	144	216
6e „	20	35
In 6 dagen	516	644
per dag		107 mG.
per 100 G. faeces		125 „

No. 2. Genezen gastritis.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	54	71
2e „	204	274
3e „	40	54
4e „	242	302
5e „	90	95
6e „	168	226
In 6 dagen	798	1022
per dag		170 mG.
per 100 G. faeces		130 „

No. 3. Hr. A.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	96	166
2e „	105	151
3e „	124	114
4e „	132	120
5e „	—	—
6e „	394	248
In 6 dagen	851	799
per dag		133 mG.
per 100 G. faeces		94 „

No. 4. Dr. F.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	283	331
2e „	210	212
3e „	95	104
4e „	53	72
5e „	120	153
In 5 dagen	761	872
per dag		174 mG.
per 100 G. faeces		115 „

No. 5. Hr. W.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	385	342
2e „	210	151
3e „	290	115
4e „	222	132
5e „	57	41
6e „	178	151
In 6 dagen	1342	932

per dag 155 mG.
per 100 G. faeces 69 „

No. 6. Hr. M.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	88	82
2e „	195	263
3e „	76	90
4e „	65	75
5e „	125	128
In 5 dagen	549	638

per dag 128 mG.
per 100 G. faeces 116 „

No. 7. Hr. K.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	128	134
2e „	182	193
3e „	152	204
4e „	102	166
5e „	52	105
In 5 dagen	616	802

per dag 160 mG.
per 100 G. faeces 130 „

No. 8. Dr. B.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	44	116
2e „	205	523
3e „	—	—
4e „	93	195
5e „	36	59
6e „	166	263
In 6 dagen	544	1156

per dag 193 mG.
per 100 G. faeces 213 „

No, 9. Hr. S.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	175	208
2e „	190	133
3e „	120	110
4e „	75	81
5e „	215	335
In 5 dagen	675	867

per dag 173 mG.
per 100 G. faeces 128 „

No. 10. Dr. L.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	180	214
2e „	159	217
3e „	172	107
4e „	227	172
5e „	212	180
6e „	156	157
7e „	54	72
8e „	244	360
9e „	274	151
10e „	164	227
11e „	158	152
12e „	149	193
In 12 dagen	2149	2202

per dag 184 mG.
per 100 G. faeces 102 „

No. 11. Ischias.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	45	19
2e ,,	290	131
3e ,,	350	129
4e ,,	210	98
5e ,,	80	48
In 5 dagen	975	425

per dag 85 mG.
per 100 G. faeces 44 ,,

No. 12. Hr. B.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	68	61
2e ,.	30	25
3e ,,	—	—
4e ,,	140	155
5e ,,	—	—
6e ,,	150	187
In 6 dagen	388	428

per dag 71 mG.
per 100 G. faeces 110 ,,

No. 13. Neuritis.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	55	77
2e ,,	60	69
3e ,,	38	50
4e ,,	—	—
5e ,,	214	208
6e ,,	295	180
In 6 dagen	662	584

per dag 95 mG.
per 100 G. faeces 88 ,,

No. 14. Observatie voor klachten van ulcus ventriculi.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	118	172
2e ,,	128	181
3e ,,	64	112
4e ,,	105	151
5e ,,	135	165
6e ,,	68	106
7e ,,	106	173
In 7 dagen	724	1060

per dag 151 mG.
per 100 G. faeces 146 ,,

No. 15. Idem.

	Faeces in G.	Urobiline in mG.
1e dag	144	62
2e ,,	85	45
3e ,,	25	11
4e ,,	150	81
5e ,,	120	62
6e ,,	74	36
In 6 dagen	598	297

per dag 50 mG.
per 100 G. faeces 50 ,,

De bepalingen bij geval 14 en 15 zijn gebeurd, nadat de patienten geheel symptoomloos geworden waren.

Deze cijfers leeren wel, hoe noodig 't is gedurende eenige dagen de metingen te doen. In tabel VII zijn van alle gevallen 't dagelijksch gemiddelde en de waarden per 100 G. faeces verzameld.

Tabel VII.

	Gemiddelde hoeveelheid urobiline per dag	Hoeveelheid urobiline per 100 G. faeces
1	107 mG.	125 mG.
2	170 „	130 „
3	133 „	94 „
4	174 „	115 „
5	155 „	69 „
6	128 „	116 „
7	160 „	130 „
8	193 „	213 „
9	173 „	128 „
13	184 „	102 „
11	85 „	44 „
12	71 „	110 „
13	95 „	88 „
14	151 „	146 „
15	50 „	50 „

Men ziet uit deze tabel, dat de normale urobiline-uitscheiding per dag met de faeces de 200 mG. niet te boven gaat, welk getal we dan ook als bovenste grens van het normale zullen nemen, terwijl bij de 15 onderzochte normale personen 135 mG. per dag het gemiddelde is.

Neemt men alleen de personen, die normaal in hun werk zijn, dus de nos. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 en 12, dan krijgt men als gemiddelde 152 mG. Door den normalen mensch wordt dus per dag met de faeces gemiddeld 135 à 150 mG. urobiline uitgescheiden.

De hoeveelheid urobiline per 100 G. faeces uitgescheiden, schommelt bij de meesten tusschen 100 en 120 mG., waarbij afwijkingen zoowel naar boven als naar beneden voorkomen.

Nu we de methode van Charnas en van Terwen voldoende hebben besproken, volgt hier een tabel, waarbij de resultaten van beide methoden, op dezelfde hoeveelheid faeces toegepast, worden vergeleken.

Tabel VIII.

	Methode Charnas		Methode Terwen
Gewicht der faeces	Hoeveelheid urobiline in zuur aetherextract.	Hoeveelheid urobiline in zuur -|- alkalisch aether-extract.	Hoeveelheid urobiline.
315 G	28 m.G.	1218 m.G.	2600 m.G.
335 „	50 „	2006 „	1737 „
87 „	62 „	253 „	314 „
90 „	32 „	291 „	535 „
150 „	43 „	223 „	432 „
245 „	317 „	383 „	1236 „
95 „	171 „	477 „	666 „
105 „	30 „	173 „	393 „
244 „	365 „	822 „	1269 „
24 „	14 „	37 „	100 „
300 „	367 „	1135 „	1728 „
159 „	33 „	199 „	217 „

Of men met de quantitatieve methoden alle urobilinogeen uit de faeces haalt, zal in elk geval afzonderlijk zijn te beoordeelen. De tegenwerping, die men vroeger maakte, dat door al dat extraheeren, oplossen en indampen een belangrijk deel van de urobiline verloren gaat, zal men tegen de methode Terwen moeilijk kunnen volhouden. Ook de meening, dat men in obstipatiefaeces minder vindt dan in de gewone, zonder dat men in de volgende dagen een aequivalente hoeveelheid terugvindt, is, zooals uit tabel VI blijkt, niet steekhoudend. Of in onzen darm het urobilinogeen nog verder kan worden afgebroken — en dus een deel van de bilirubine-omzetting aan onze waarneming ontsnapt — daarover bezitten we tot nu toe geen gegevens.

HOOFDSTUK V.

Het Verband tusschen Urobilinevorming en Bloedafbraak.

Het is nu eenmaal een eigenschap van den wetenschappelijken vorscher, dat hij speurt en zoekt om de dingen, die om hem heen gebeuren, in hun wezen te doorgronden. Moeilijk is dit werk, maar nog moeilijker, als 't gaat om een biologisch proces te begrijpen en te vervolgen.

In het levende organisme hebben de meeste cellen een beperkten levensduur; ook de erythrocyt heeft slechts een tijdelijk bestaan, volgens Quincke van 30 dagen. Elke dag gaat dus 1/30 deel van onze roode bloedlichaampjes ten gronde, die door nieuwe cellen moeten worden vervangen. In de milt, in de lever, in het beenmerg heeft deze afbraak plaats, waarvan wij de hoegrootheid slechts bij benadering kunnen berekenen. Het staat thans wel vast, dat de haemoglobine van het afgebroken bloed naar de lever wordt gevoerd en daar wordt omgezet, via de haematine, in bilirubine. Weten we nu de hoeveelheid bilirubine, die per dag gevormd wordt, dan weten we, de samenstelling van de haemoglobine en van de bilirubine kennende, hoeveel bloed is verwoest. Maar ook de bilirubine is geen grijpbaar ding bij den normalen mensch, doch wel het product, dat uit haar ontstaat, de urobiline. Kennen we de samenstelling van de urobiline en de hoeveelheid urobiline, die per dag wordt uitgescheiden, dan zal het ons dus mogelijk zijn daaruit te berekenen hoeveel bloed er verwoest is.

Bij den gezonden mensch wordt praktisch meetbaar

alleen met de faeces urobiline uitgescheiden; in pathologische omstandigheden zullen we ook de met de urine uitgescheiden urobiline in rekening moeten brengen.

Voor de berekening hebben we dus te kennen de hoeveelheid bloed, die een bepaald persoon bezit, de hoeveelheid haematine, die daarin voorkomt, benevens de chemische samenstelling van de haematine, de bilirubine en het urobilinogeen. De samenstelling van de haematine moeten we kennen, omdat dit het deel van de haemoglobine is, waaruit de bilirubine ontstaat.

Vroeger nam men aan, dat de hoeveelheid bloed 1/13 deel van het gewicht van ons lichaan was. Onderzoekingen van latere jaren hebben geleerd, dat dit niet juist is. Met de CO-methode van Gréhant en Quinquaud, door hen uitgevonden om de hoeveelheid bloed bij den hond te meten, een methode, die door Haldane voor den mensch geschikt werd gemaakt, vond Oerum, dat de hoeveelheid bloed bij den man gemiddeld 5.2 % en bij de vrouw 4.6 % van het lichaamsgewicht is. Hij onderzocht 9 mannen en 3 vrouwen. Lorrain Smith vond, ook met de CO-methode werkende, 4.6 % voor den man en 5.3 % voor de vrouw. Plesch vindt met zijn chromophotometer, dat bij volwassenen de hoeveelheid bloed 1/20 van het lichaamsgewicht is. Waar deze waarnemingen zoo met elkaar overeenstemmen ,nemen we voortaan aan, dat de hoeveelheid bloed 5 % is van het lichaamsgewicht.

De hoeveelheid haemoglobine in het menschenbloed bedraagt 14 %, terwijl van de haemoglobine 4.47 % haematine is.

De formule van haematine is $C_{33}H_{32}N_4FeO_4$, die van bilirubine is $C_{33}H_{36}N_4O_6$ en die van 't urobilinogeen $C_{33}H_{44}N_4O_6$.

Bij iemand van 70 K.G. lichaamsgewicht bedraagt dus de hoeveelheid bloed 3500 G., de hoeveelheid haemoglobine 490 G., en de hoeveelheid haematine 21.9 G. Wanneer per dag 1/30 deel van de totale hoeveelheid bloed afgebroken wordt, verdwijnt er dus 0.730 G. haematine, die dan in bilirubine overgaat volgens de formule:

$$C_{33}H_{32}N_4FeO_4 + 2H_2O = C_{33}H_{36}N_4O_6 + Fe ,$$

waaruit volgt, dat 6.04 G. haematine volgens deze formule 5.84 G. bilirubine kan leveren. Per dag zou er dus ontstaan 0.710 G. bilirubine. Gezien de formule van bilirubine en urobilinogeen, ontstaat er uit 0.710 G. bilirubine een even groote hoeveelheid urobiline. Dat Fischer bij zijn reductieproeven van het bilirubine tot urobilinogeen van dit laatste slechts 50 % kreeg van de hoeveelheid daarvoor gebruikte galkleurstof, is voor ons geen reden, gelijk Eppinger doet, dat ook op den mensch toe te passen bij zijn urobilinebereiding.

Zoo is het theoretisch. Waar we hebben aangenomen, dat de normale volwassen mensch per dag hoogstens 200 mG. urobiline met de faeces uitscheidt, vragen we ons dus af, wat gebeurt er met het deel, dat we niet in de faeces terugvinden.

Eppinger, die het eerst de uitscheiding van urobiline met de faeces gebruikt heeft als maatstaf voor de grootte van de bloedafbraak, rekent echter anders. Hij gaat uit van de hoeveelheid bilirubine, die per dag gevormd wordt; weet hij hoeveel bilirubine per dag en per K.G. lichaamsgewicht door den mensch wordt bereid, dan kan hij daaruit berekenen, 1e. hoeveel urobiline er uit moet ontstaan, 2e. door de bilirubine om te rekenen in haematine, nagaan, in hoeveel tijd het bloed afgebroken wordt.

De moeilijkheid zit nu in het bepalen van de hoeveelheid bilirubine per dag. Daarvoor is een mensch noodig met een galfistel, waaruit geheel normale gal naar buiten wordt gevoerd; in die gal is dan het gehalte aan bilirubine te bepalen. Bij den hond zijn door verschillende onderzoekers deze bepalingen verricht. Zoo vond Brugsch per K.G. dier 20 mG. biliribune, Stadelman 7 mG., Hooper and Whipple 2 mG., Eppinger als maximum 10 mG.

Tigerstedt meent, dat de gezonde mensch per dag 0.5 G. bilirubine vormt, anderen nemen het getal hooger. Eppinger kon bij twee gevallen van ductus choledochusafsluiting, één door galsteenen, de andere door een klein carcinoom van de ductus choledochus, de hoeveelheid per dag gevormde bilirubine bepalen. Bij de eerste patiente, die 55 K.G. woog, 4.3 millioen erythrocyten en een haemo-

globinegehalte had van 75 % Sahli, kon hij per dag een hoeveelheid meten van 300—370 mG. De tweede patient, die 51 K.G. woog, ook 4.3 millioen erythrocyten en haemoglobinegehalte van 82 % Sahli had, vormde dagelijks 850—910 cM³. gal, waarin van 300—350 mG. bilirubine aanwezig was. Hij kwam dus hier tot een waarde van 7 mG. per K.G. lichaamsgewicht. Dergelijke bepalingen beschouwe men met groote voorzichtigheid; uit de samenstelling, die in de twee gevallen van Eppinger blijkbaar niet bepaald is, blijkt meestal duidelijk, dat men niet met normaal samengestelde gal te doen heeft.

Steunend op zijn vondst bij den hond, schat Eppinger de hoeveelheid uitgescheiden bilirubine per dag bij den mensch op 0.007 G. per K.G. lichaamsgewicht.

Volgens dit getal zou dan een mensch van 70 K.G. per dag 0.49 G. bilirubine vormen, waarvoor 0.5 G. haematine noodig is. Volgens deze berekening zet de mensch zijn bloed om in

$$\frac{21.9}{0.5} \times 1 \text{ dag} = 43.8 \text{ of globaal genomen in 44 dagen.}$$

Uit die 0.49 G. bilirubine zou de normale mensch van 70 K.G. volgens Eppinger 0.294 G. urobiline kunnen vormen; waar we de bovengrens hebben aangenomen als te zijn 200 mG. en het gemiddelde meestal om de 150 mG. schommelt, en Eppinger zelf 140 mG. als normaal aanneemt, rijst wederom de vraag, wat er met die niet gevonden hoeveelheid urobiline is gebeurd.

De vraag doet zich vanzelf voor, of het toelaatbaar is de waarden bij den hond gevonden, op den mensch over te brengen.

De grootte van de galafscheiding is reeds onder physiologische verhoudingen aan wisseling onderhevig, de samenstelling van het voedsel heeft er invloed op, de grootte van de bloedafbraak in het hondenlichaam, de intensiteit, waarmee de lever arbeidt, kortom zoovele factoren spelen een rol, dat we huiverig moeten zijn de bilirubinevorming van het dier zoo maar klakkeloos op den mensch over te brengen. Bedenken we daarbij, dat de experimentators bijna alle verschillende bilirubinewaarden hebben gevonden bij hun fistelhonden, dan is er alle reden om deze uitkomsten te wan-

trouwen en zullen we ze zeker niet gebruiken om ze gelijk aan die van den mensch te verklaren. Mijns inziens is de bepaling van de hoeveelheid bilirubine volgens de wijze, waarop Eppinger dat doet, geenszins een maat voor de intensiteit van de bloedafbraak en wel omdat nergens en door niemand het bewijs is geleverd, dat de mensch 7 mG. bilirubine per dag en per Kilo lichaamsgewicht vormt. Dat de eene dat niet gelijk doet aan den ander, dat leeren ons de urobilinebepalingen bij gezonde menschen; deze urobilinewaarden mogen we ongetwijfeld beschouwen als een afspiegeling van de hoeveelheid gevormde bilirubine. Zoo zijn b.v. No. 13 en 14 van Tabel V twee menschen, die onder precies dezelfde voorwaarden leefden en hetzelfde voedsel gebruikten, maar de een scheidt 56 mG. urobiline per dag meer uit dan de ander.

Is die bilirubinewaarde al niet constant bij verschillende gezonde menschen, hoeveel minder zal ze het dan zijn bij het zieke individu als de bloedafbraak sterk vermeerderd is, als bij bloedingen onder de huid of in sereuze holten de bilirubinevorming toeneemt of als bij gewijzigde of gestoorde leverfunctie de samenstelling van de gal en dus ook de aanmaak van de bilirubine zich geheel wijzigt.

Uit deze overwegingen volgt wel, dat de bepaling van de hoeveelheid bilirubine voor ons geen maat kan zijn voor de „Blutmauserung", de bloedafbraak. Waarom zouden we met veronderstelde hoeveelheden bilirubine werken, als we concrete feiten, de gemeten hoeveelheid urobiline, tot onze beschikking hebben als basis, waarop we onze berekeningen over de grootte van de bloedafbraak kunnen bouwen. Nemen we nog eens den man van 70 K.G. als voorbeeld. Volgens onze bepaling bij normale menschen scheidt deze man per dag 150 mG. urobiline uit, 't geen overeenkomt met 153 mG. haematine. De totale hoeveelheid haematine van zijn bloed is 21.9 G. *Hij breekt zijn bloed dus af in ruim 140 dagen.* Zouden we voor hem het maximum van urobilineuitscheiding aannemen, n.l. 200 mG. per dag, dan zou hij zijn bloed in bijna 110 dagen hebben verbruikt. Wel heel veel langer dan we tot nu toe meenden, is dus vermoedelijk de levensduur van de erythrocyt.

Waar het op aankomt, is of alle haematine via de bilirubine in urobiline wordt omgezet en of alle urobiline wordt uitgescheiden. Volgens de klassieke enterogene theorie der urobilinevorming, wordt de geresorbeerde urobiline naar de lever gevoerd, wordt daar gebruikt om de gal mee te helpen opbouwen en wordt anderdeels met de gal naar den darm afgevoerd. Of de urobiline gebruikt wordt bij de vorming van de gal weet niemand; dat ze met de gal mee naar den darm gevoerd wordt, staat wel vast, sinds verschillende onderzoekers haar in de per duodenumsonde ontlaste gal hebben kunnen vinden, onderzoekingen, waarop we weldra terugkomen. Maar ten slotte zal ook dit deel der urobiline moeten worden uitgescheiden. Blijft natuurlijk nog altijd de mogelijkheid, dat een deel van het urobilinogeen in den darm nog verder wordt afgebroken en zoo aan onze waarneming ontsnapt. Daarbij komt de vraag, of werkelijk alle haematine via bilirubine in urobiline wordt omgezet. Waar wij op al deze vragen geen antwoord kunnen geven, doen wij mijns inziens verstandig voorloopig als grondslag voor onze berekeningen aan te nemen de waarden van de in faeces en urine uitgescheiden urobiline, zooals we die met de methode T e r w e n hebben leeren bepalen en waaruit volgt, dat bij den gezonden mensch de hoeveelheid bloed in ongeveer 140 dagen is verbruikt. We doen dit met te meer vertrouwen, wijl deze bepaling in het algemeen steunt op standaardbepalingen, die aan de weging van zeer zuivere urobiline parallel liepen.

Gesteld nu, dat deze mensch van 70 K.G. een pernicieuse anaemie heeft. Hij heeft 1.2 millioen erythrocyten, haemoglobinegehalte is 30 %, kleurindex 1.25; hoeveelheid urobiline dagelijks met de faces uitgescheiden gemiddeld 600 mG.; hij heeft dan een hoeveelheid bloed, die wel 3500 c.c. is, maar die niet meer 14 G. haemoglobine per 100 cM^3. bevat, doch 0.3 $\times$ 14 G. = 4.2 G. De totale hoeveelheid haemoglobine is in dit geval 147 G., die 6.6 G. haematine bevat. De hoeveelheid per dag uitgescheiden urobiline is 600 mG., die overeenkomt met 600 mG. haematine. Deze man verbruikt dus zijn bloed in $\frac{6600 \text{ m.G.}}{600 \text{ m.G.}} \times 1$ dag = 11 dagen. Hij breekt dus zijn bloed dertien maal

zoo vlug af, als een normaal mensch met hetzelfde gewicht. Absoluut genomen is het anders; de patient scheidt per dag 600 mG. urobiline uit, normaal is dit 150 mG.; de patient gebruikt vier maal zooveel bloed per dag als de normale mensch.

We hebben bij deze berekening — en zullen het bij alle volgende eveneens doen — als normaal aangenomen het hoogste gemiddelde, dit is 150 mG. urobiline. We vergelijken daardoor de snelheid van bloedafbraak in pathologische gevallen met de normale van 140 dagen.

Ons zoeken, onze wensch om door te dringen in het wezen der dingen mag dan geen bevrediging hebben bij de onopgeloste vraag, of de bloedafbraak volbracht is in 30, in 44 of in 140 dagen, maar een zeker inzicht in hetgeen er gebeurt bij den zieken mensch hebben wij toch met berekeningen als juist beschreven, gewonnen. Beschouwen we de verkregen getallen niet als absolute waarden, maar als vergelijkingscijfers, dan hebben we ongetwijfeld daarmee een goed inzicht gekregen in de snelheid, waarmede de bloedafbraak in pathologische gevallen plaats heeft ten opzichte van den norm. En mogen we met deze uitkomst niet geheel voldaan zijn, een heel eind verder zijn we toch gekomen in de kennis van het proces van de bloedafbraak.

Er is in de latere jaren nog een andere methode in gebruik gekomen om de bloedafbraak te meten, die minder eenvoudig is dan de juist besprokene. Gebruik makend van de methode van Einhorn om duodenaalsap te krijgen, hebben Amerikaansche onderzoekers als eersten deze methode aangewend om bij normalen en zieken de hoeveelheid urobiline in dit vocht te bepalen om zoo een inzicht te krijgen in den omvang van de bloedafbraak. Reeds vóór hen hadden Medak en Pribram met behulp van de duodenumsonde getracht de intensiteit van het bloedverbruik te meten. Zij deden dit door in het duodenumsap de hoeveelheid bilirubine te bepalen; hoe sterker de bloedafbraak, hoe meer bilirubine er was. Aan quantitatieve urobilinemetingen deden ze niet.

Vermoedelijk is Schneider de eerste geweest, die verband legde tusschen de hoeveelheid urobiline in het duo-

denumsap en de vermeerderde bloedafbraak bij sommige bloedziekten, vooral de pernicieuse anaemie. Hij deed zijn bepalingen met een gewijzigde methode van Wilbur and Addis.

Hoe men met behulp van de duodenumsonde van Einhorn duodenaalinhoud kan krijgen, daarvoor zij verwezen naar de desbetreffende litteratuur (Bondi, Medak und Pribram, Chiray et Lebon). Schneider gebruikt bij zijn methode 20 cM³. duodenaalsap; de bepaling gebeurt onmiddellijk, opdat 't urobilinogeen niet overga in urobiline. Hij verdeelt deze 20 cM³. in twee porties van 10 cM³., die hij in een maatglas van 25 c.c. doet. Bij de eene portie van 10 cM³. (de andere gebruikt hij om de bilirubinehoeveelheid te meten), doet hij 10 cM³. van het reagens van Schlesinger; krachtig schudden gedurende één minuut en filtreeren in een droog cylinderglas. 10 c.c. van het filtraat wordt gebruikt voor onderzoek en bevat dus 5 c.c. duodenaalsap en 5 c.c. reagens van Schlesinger. Hierbij voegt men 1 cM³. van het aldehyd van Ehrlich. Indien er veel urobilinogeen is, dan wordt de vloeistof na toevoeging van het aldehyd kersrood; wanneer de urobiline overheerscht, dan wordt de kleur bij doorvallend licht geel en bij opvallend licht groen. Het maatglas met zijn gekleurden inhoud wordt nu gedurende 15 minuten in het donker gezet vóór het spectroscopisch bekeken wordt. Om de hoeveelheid urobiline en urobilinogeen te meten, wordt nu de gekleurde vloeistof met alcohol verdund voor de spectroscoop, zoolang, tot de absorptiestreepen verdwenen zijn. Meestal verschillen de urobiline en het urobilinogeen in intensiteit, de eene band zal bij de verdunning dan ook eerder verdwenen zijn dan de andere, maar mogelijk is natuurlijk, dat ze gelijktijdig verdwijnen. Het eindpunt van de verdunning is bereikt, wanneer de absorptiestreep verdwenen is, maar nog even weer te voorschijn kan worden gebracht door de lichtspleet van de spectroscoop voor de helft nauwer te maken. De hoeveelheid urobiline en urobilinogeen wordt uitgedrukt, gelijk Wilbur en Addis het doen, in eenheden, „units", ten opizchte van 1000 cM³. Waar we van 5 cM³. duodenaalvocht zijn uitgegaan, moet dus het getal eenheden telkens met 200 vermenigvuldigd worden. Eén „unit" is één ver-

dunning. De eenheden van de urobiline en het urobilinogeen tellen we bij elkaar op. Hebben we b.v. de 10 c.c. filtraat 3 maal moeten verdunnen voor de urobilinogeenband en vier maal voor de urobilineband verdwenen was, dan bezit 't duodenumsap: $3 \times 200 + 4 \times 200 = 1400$ eenheden urobiline. Bij Schneider is 1000 eenheden de grens van het normale.

Hij heeft het verband tusschen urobilinevorming en bloedafbraak uitgedrukt in de „hematopoietic-hemolityc index" die kortweg met H.H. wordt aangeduid en aldus wordt voorgesteld: $H.H. = \frac{z + y}{x}$

x stelt voor de haematopoiesis; y het „splenism", het hepato-lienale complex, waaronder men hier verstaan moet de totale hoeveelheid urobiline en urobilinogeen van het duodenaalsap uitgedrukt in „units" ten opzichte van 1000 cM^3. en dat zooals juist gezegd door Schneider bij normalen op 1000 is gesteld; y drukt uit het aantal eenheden in duizendtallen; z is het aantal chromocyten, in millioentallen uitgedrukt. Waar men aanneemt, dat de mensch normaal heeft 5.000.000 chromocyten, de urobiline-uitscheiding volgens Schneider normaal 1000 eenheden is, is bij normale personen $z = 5$ en $y = 1$. De door Schneider opgestelde formule $x - y = z$, wordt dus $x - 1 = 5$, waaruit volgt $x = 6$. Het getal $x = 6$ is constant.

De index H.H. wordt dus:

$H.H. = \frac{z + y}{x} = \frac{5 + 1}{6} = 1$ in het normale.

Vindt men in een pathologisch geval b.v. $z = 2$, $y = 3.2$, dan wordt $H.H. = \frac{2 + 3.2}{6} = \frac{5.2}{6}$. Wanneer de haemolyse groot is, zal de index stijgen; hij zal dalen, als de aanmaak vermindert.

Erg voor de hand ligt de opstelling van dezen index niet en erg logisch is hij ook niet. Er zit veel gewrongens in een formule, waarin ongelijknamige grootheden, als chromocyten en urobiline-eenheden bij elkaar moeten worden opgeteld en dat haar dan ook onbruikbaar maakt. Schneider vindt bij den normalen mensch altijd urobiline in de duodenumgal; dat doen Giffin, Sanford en Szlapka eveneens;

deze laatsten deden vele waarnemingen bij bloedziekten met de juist beschreven gewijzigde methode van Wilbur en Addis. Zij vonden de urobiline in het duodenumsap sterk vermeerderd bij haemolytischen icterus en pernicieuse anaemie, waarden, die bij de bespreking van die twee ziekten nog nader zullen worden vermeld; geen vermeerdering vonden ze bij gevallen van myelogene leukämie.

Schneider heeft zijn urobilinebepaling in het duodenumsap gebruikt om de pernicieuse anaemie van de andere vormen van bloedarmoede te onderscheiden. Hij vermeldt drie gevallen van Carcinoma ventriculi, die op grond van het bloedbeeld (dat in het oorspronkelijke stuk niet opgegeven staat) voor aan pernicieuse anaemie lijdenden werden gehouden. De lage duodenumsap-urobiline-waarde bracht aan het licht, dat de diagnose onjuist was; toen werd bloed in de faeces gevonden en kwam de ware diagnose voor den dag.

Ook in Duitschland is het quantitatieve urobilineonderzoek in het duodenumsap bestudeerd en wel door Strauss en Hahn. Zij maakten gebruik van de gewichtsanalytische methode. 30 cM^3. duodenaalsap werd gemengd met 30 cM^3. water, waarna er 150 c.c. barytwater aan werd toegevoegd; het bilirubine bevattende neerslag werd afgefiltreerd en het alkalische filtraat zoolang aan het licht blootgesteld tot de Ehrlich'sche aldehydreactie negatief geworden was. Daarna werd Na_2SO_4 toegevoegd om de overmaat van het baryum neer te slaan en de vloeistof met H_2SO_4 geneutraliseerd. Bij 't filtraat wordt $^1/_3$ of $^1/_2$ volumen ammoniumsulfaat in substantie gevoegd, dit herhaaldelijk omgeroerd en daarna 24 uur weggezet. Het filtraat geeft dan geen urobilinereactie meer. Als 't residu luchtdroog geworden is, wordt de urobiline er met een mengsel van 2 deelen alcohol en 1 deel aether onder toevoeging van 1 cM^3. verdund H_2SO_4 uitgehaald; het alcoholaetherextract wordt wat ingedampt, met een even groote hoeveelheid water vermengd en dan wordt de urobiline er met chloroform uitgeschud. Het chloroformextract wordt ingedampt en gedroogd en de verkregen hoeveelheid urobiline door weging bepaald.

Zij vonden in elk duodenumsap urobiline en als gemiddelde van de door hen onderzochte personen 0.14 G. per

100 cM³. gal. Ze noemen zelf deze waarden hoog. In 't eene geval van pernicieuse anaemie, dat zij onderzochten, vonden ze de hoeveelheid urobiline in de gal niet vermeerderd.

Ook Adler heeft met zijn methode urobilinebepalingen in 't duodenumsap gedaan. Hij vindt bij normalen gemiddeld 4 à 5 mG. per 100 M³.; bij een geval van maagcarcinoom vond hij een waarde van 85 mG. per 100 en bij een lijder aan galgangcarcinoom met groote levermetastasen zonder galstuwing 730 mG. op de 100 c.c.

Eppinger geeft op, dat hij slechts zelden urobiline in de duodenumgal gevonden heeft.

Het blijkt wel, dat de hoeveelheid urobiline, die door de verschillende onderzoekers gevonden wordt, heel wat verschilt, varieerend van niets tot 140 mG. per 100 cM³. gal, afhankelijk van de gebruikte methode.

Volgens een geheel eigen methode hebben Chiray en Benda de urobiline in den dundarminhoud bepaald; ze hebben haar slechts qualitatief, niet quantitatief aangetoond. Ook zij zorgen, dat alle urobilinogeen in urobiline wordt omgezet. Om bij de extractie van de urobiline met chloroform niet gehinderd te worden door de bilirubine, zetten zij deze laatste kleurstof om in biliverdine. De bilirubine is n.l. wel, de biliverdine niet oplosbaar in chloroform. Deze omzetting gebeurt met behulp van HCl 10 %, die tevens 't urobilinogeen omzet in urobiline. Bij 5 c.c. duodenaalsap, waaraan men een spoor H_2O_2 toevoegt, doet men 5 c.c. van die 10 % HCl en kookt dit op 't waterbad tot de kleur diepgroen geworden is. Men haalt de urobiline er uit met behulp van 5 c.c. chloroform. De urobiline toont men aan met behulp van een verzadigde oplossing van Zinkacetaat in chloroform (10 G. watervrije zinkacetaat schudden met 200 G. zuivere chloroform; 24 uur laten staan en de bovenstaande vloeistof, die een verzadigde oplossing van Zn-acetaat in chloroform is, afschenken).

Ook hun conclusie is, dat in elke duodenum-inhoud urobiline aan te toonen is.

Zoo zagen ze bij twee gevallen van icterus catarrhalis de urobiline uit serum, faeces, urine en gal verdwijnen. Begint de urobilinevorming weer, dan verschijnt ze het laatst in het duodenumsap.

Alles te zamen genomen blijkt dus, dat de meeste onderzoekers urobiline in het duodenumsap vinden en dat dit een methode is om de intensiteit van bloedafbraak te meten. 't Nadeel ligt natuurlijk in de sondeering van het duodenum. Dit is voor den patient onaangenaam en maakt 't feitelijk onmogelijk om dagelijksche bepalingen te doen.

Een ander, niet gering te schatten nadeel is, dat men geen gal van 24 uur heeft, maar van een bepaald oogenblik, al is het begrip „oogenblik" hier zeer rekbaar, daar dit meestal van 15—60 minuten bedraagt. Men zal voor deze bepalingen elken patient daarom onder dezelfde voorwaarden moeten onderzoeken, dus op de nuchtere maag. In de totale galproductie kan men nooit een inzicht krijgen, omdat de secretie van de gal wel afhankelijk zal zijn van den vullingstoestand van het duodenum en de samenstelling van het voedsel. Men zal dus de hoeveelheid verkregen vloeistof moeten meten en omrekenen b.v. op 100 c.c. duodenumsap. Neemt men de hoeveelheid, verkregen b.v. in 60 minuten, aan als maatstaf voor de secretie van een heelen dag, dan zal men zeker in een of andere richting fouten maken. We zullen dus met deze methode der duodenumsondeering nooit absolute, maar wel vergelijkingswaarden kunnen krijgen. Het getal bepalingen bij normalen en zieken is nog zoo gering en de normale waarden loopen zoo sterk uiteen, dat we voorloopig in de waardeering van deze methode nog zeer voorzichtig moeten zijn.

HOOFDSTUK VI.

De Toepassing der quantitatieve Urobilinogeenbepaling in de kliniek.

Wij hebben nu in den breede besproken op welke beginselen de methode van Terwen berust om het urobilinogeen in de faeces en de urine te bepalen, waarna we de voor deze beide excreta uitgewerkte werkwijze hebben toegepast op normale personen. In het vorig hoofdstuk hebben we gezien, hoe de juiste kennis van de hoeveelheid uitgescheiden urobiline ons op eenvoudige wijze in staat stelt om te berekenen hoeveel bilirubine er noodig is om die bepaalde hoeveelheid urobiline te doen ontstaan en dat we dan tevens weten hoeveel haematine er verbruikt is; zoo kunnen we dus nagaan hoeveel bloed er dagelijks vermoedelijk ten gronde gaat. Bij sommige ziekten kan de hoeveelheid uitgescheiden urobiline sterk toenemen; 't spreekt van zelf, dat dit in de eerste plaats gebeuren zal bij die ziekten, waar veel chromocyten te gronde gaan, dus bij haemolytischen icterus, bij pernicieuse anaemie, bij malaria, en vooral bij zwartwaterkoorts. Bij al deze ziekten — hoewel dit voor de zwartwaterkoorts nog niet is aangetoond — zullen we een groote hoeveelheid urobiline in de faeces verwachten en waar de lever in vele van deze gevallen aan het ziekteproces deelneemt, ook in de urine. Voor de bepaling van de grootte van de bloedafbraak moet dus 't urobilinegehalte van urine en faeces worden gemeten. Maar we zullen nog tot andere methoden onze toevlucht kunnen nemen om een inzicht te krijgen in het ziekteproces, dat tot een vermeerderde urobilinevorming aanleiding geeft. Voor een meerdere

urobilinevorming is een grootere hoeveelheid bilirubine noodig. Nu is er normaal in het bloedserum reeds een zekere, heel kleine hoeveelheid galkleurstof aantoonbaar; de verhoogde bilirubineproductie zal vermoedelijk ook wel een verhoogde bilirubinaemie geven. Bij al onze gevallen zullen we den galkleurstofspiegel van het serum hebben te bepalen, wat geschiedt op de door Hijmans van den Bergh en Snapper aangegeven wijze. De methodiek van deze reactie vindt men in de monografie: „Der Gallenfarbstoff im Blute", geschreven door de eerste van hen beiden en verder zeer duidelijk in het boek: „Klinische Diagnostiek" van Gorter en De Graaf. Met nadruk wil ik hier nog eens wijzen op het verschil, dat er bestaat tusschen de directe en indirecte reactie. Bij de reactie heeft een binding plaats tusschen diazoreagens en bilirubine, die optreedt als er een „koppelingsstof", b.v. alcohol aanwezig is, maar in de gal kan optreden zonder toevoeging van alcohol.

In het laatste geval is de reactie *direct* en zit de koppelingsstof dus in de gal zelve. Moet men echter om de binding tot stand te brengen tusschen diazoreagens en gal, alcohol toevoegen, dan heet de reactie *indirect*. Direct is de reactie, als de hyperbilirubinaemie op galretentie berust. Indirect is de reactie, als de hyperbilirubinaemie ontstaat door verhoogde haemolyse (anhepatische galkleurstofvorming). De directe reactie is dan negatief en men moet de bilirubine eerst met alcohol samenbrengen om een positieve reactie te zien optreden. Ik zou willen raden om niet, gelijk in de oorspronkelijke verhandeling staat, te werken met 0.5 cM^3. serum op 1 cM^3. alcohol, doch om 2 cM^3. ervan op 4 c.c. alcohol 96 % te laten vallen. Men kan dan filtreeren, behoeft niet te centrifugeeren en verkrijgt gemaklijk een hoeveelheid van 2 cM^3. filtraat, waarmee men de reactie verder kan doen. Normaal komt in 't bloed volgens Hijmans van den Berg en Snapper een hoeveelheid bilirubine voor, die schommelt tusschen 0.4 en 0.8 Eenheden, wanneer als eenheid aangenomen wordt een gehalte van 1/200.000 G. bilirubine per cM^3. serum. Tot bilirubinurie kan het komen, als de bilirubinaemie de 4/200.000 te boven gaat; dit gebeurt bij den haemolytischen icterus niet.

Bij elke verhoogde bloedafbraak zal het beenmerg de

neiging hebben om het verlies aan te vullen door een vermeerderde productie van erythrocyten. Kan aan die aanvraag gemaklijk voldaan worden, dan komen er normale chromocyten in het perifere bloed; is het verlies te groot en moet daardoor de aanmaak te haastig geschieden, dan brengt het beenmerg erythrocyten in de circulatie, die van de normale afwijken, doordat ze, òf een kern bezitten òf doordat het stroma ten opzichte van de kleurstoffen andere eigenschappen bezit. Zoowel 't optreden van normoblasten als van vermeerderde polychromasie en van vitaalkleurbare erythrocyten zijn teekenen van echte regeneratie. Als b.v. de aanval van zwartwaterkoorts voorbij is, ziet men zoo talrijke normoblasten komen in het perifere bloed, dat men van „normoblastencrisis" spreekt.

Jeugdige chromocyten zijn polychromatophyl, d.w.z. zij trekken zoowel zure kleurstoffen (eosine), als basische (methyleenblauw) aan, waardoor ze met de Giemsakleurstof geen roode, maar een blauwachtige, violette tint krijgen.

Van zeer veel belang in de haematologie is de vitaalkleuring, omdat ze ons een goed inzicht verschaft in het regeneratievermogen van het beenmerg. De methodiek is aldus: op een voorwerpglas strijkt men met een dunnen glazen staaf uit een 1 % oplossing van azuur II in alcohol absolutus. Men zwaait het objectglas snel heen en weer tot het droog is. Dan doet men op een dekglas een kleinen druppel bloed uit oorlel of vingertop, laat dit op het voorwerpglas vallen en strijkt langs de randen een dun laagje vaseline om het indrogen te voorkomen. Bekijkt men dit bloed-preparaat, dan ziet men tusschen de gewone schijnbaar structuurlooze roode bloedcellen ettelijke liggen, die een blauw gekleurd netwerk vertoonen, de substantia reticulo-filamentosa. In het normale bloed vindt men van 1 tot 5 pro mille van deze cellen; 't zijn jonge erythrocyten; een vermeerderd optreden wijst zeker op een verhoogde beenmergfunctie.

Volgens N ä g e l i kan men bij pernicieuse anaemie chromocyten vinden, die verscheidene geïsoleerde vitaalkleurbare korreltjes bevatten.

Vergelijkt men bloedpraeparaten volgens Giemsa gekleurd en vitaalgekleurden, dan blijkt er duidelijk verband te be-

staan tusschen polychromasie en vitaalkleurbaarheid, alleen de laatste komt veelvuldiger voor.

Van nog een andere methode hebben wij bij het onderzoek gebruik moeten maken en wel om 't weerstandsvermogen der erythrocyten tegen hypotonische zoutoplossingen te bepalen. De methode van Ribièrre is daarvoor door ons gebruikt. Hierbij gaat men uit van een keukenzoutoplossing van 0.5 %. Hiervan doet men in de eerste buis 25 druppels, in de tweede buis 24 druppels en 1 druppel aqua destillata, in de derde buis 23 druppels keukenzout en 2 druppels aqua destillata en zoo voort. Begint b.v. de haemolyse in een buis, waarin zijn 20 druppels NaCl 0.5 % en 5 druppels aqua destillata, dan begint de bloedsontleding dus bij $\frac{20}{25} \times 0.5$ % NaCl = 0.4 % NaCl. Begint de haemolyse reeds hooger dan bij 0.5 % NaCl, dan zal men b.v. van 0.7 % NaCl moeten uitgaan.

In de urine is ook nog de *reactie van Hay* verricht ter onderzoek op de aanwezigheid van galzure zouten. Brulé legt zeer den nadruk op dit onderzoek; volgens hem is er bij elke urobilinurie een verhoogde bilirubinaemie; maar bilirubine en galzure zouten worden niet altijd parallel aan elkaar tegengehouden. Is er een afsluiting der galwegen, dan vindt men in de urine galzouten met bilirubine of urobiline; is er levercelbeschadiging, dan worden kleurstoffen en zouten òf gelijkelijk teruggehouden òf de kleurstof òf de zouten ieder afzonderlijk worden niet uitgescheiden.

De reactie van Hay berust op de eigenschap van de galzure zouten om de oppervlaktespanning van de urine te verminderen. Zij wordt op de volgende manier uitgevoerd: op versch geloosde, gefiltreerde urine, die zich in een bekerglas of puntglas bevindt, strooit men heel voorzichtig zeer droge bloem van zwavel. Zijn galzuren aanwezig, dan spreidt zich de zwavel in een dun laagje over 't oppervlak uit, terwijl dit zeer spoedig naar beneden begint te zakken.

Langs al deze wegen dus hebben we getracht een inzicht te krijgen in hetgeen er gebeurt in 't menschelijk lichaam tijdens de verhoogde bloedafbraak. Voor 't bepalen van het urobilinogeen geldt in de pathologie 't zelfde als bij den normalen toestand, dat de heele hoeveelheid faeces en urine

van 24 uur moet worden gebruikt en dat de waarneming over verscheidene dagen, minstens over een week moet loopen.

Na deze inleidende uiteenzetting komen we tot het bespreken van het resultaat van het onderzoek bij eenige ziekten.

A. Haemolytische Icterus.
(Verkregen vorm).

De symptomen, die zoowel bij den congenitalen als bij den verkregen vorm voorkomen, zijn icterus, miltvergrooting, aanzienlijke bilirubinaemie zonder bilirubinurie, meestal sterke urobilinurie, veel urobiline in de faeces en de weerstand der erythrocyten tegen hypotonische zoutoplossingen is verminderd.

Van een verkregen vorm van haemolytischen icterus zijn er twee ter observatie geweest, wier ziektegeschiedenissen thans volgen:

1. van B., man van 35 jaar, is vóór 15 weken bedlegerig geworden wegens krachteloosheid, gevoel van algeheele zwakte. Toen de huisdokter hem voor het eerst zag, constateerde deze geelzucht, die tijdens de bedrust nog toenam. Buiten de krachteloosheid had de patient geen gevoel van ziek te zijn. In den loop der weken waren de krachteloosheid en de geelzucht nu eens wat meer, dan wat minder erg. Koorts heeft hij nooit en ook geen pijnen; geen jeuk, de eetlust is goed; hij gaat n.l. wel met honger aan tafel, maar krijgt gauw het gevoel van verzadigd te zijn.

De ontlasting is zeer traag, komt nooit spontaan; urine ziet er donker uit. Andere klachten heeft de patient op het oogenblik niet.

In Juni 1923 heeft hij twee nachten achtereen heftige kortdurende buikpijn gehad in den bovenbuik onder de ribben; die pijn trok naar beneden. Maar na Juni heeft hij er geen last meer van gehad.

Hij heeft op 18-jarigen leeftijd een appendectomie ondergaan. In de kinderjaren alleen mazelen gehad. Heeft geen venerische ziekten gehad, gebruikt slechts uiterst weinig alcohol.

Patient is getrouwd en heeft twee gezonde kinderen. Bij

opname in het Binnengasthuis op 9 Januari wordt het volgende gevonden:

Status Praesens.

Patient maakt geen zieken indruk, ligt actief in bed; intelligente man. Hij is goed gebouwd en goed gevoed, tong is vochtig en niet beslagen; de huid is lichtgeel, blosje op de wangen, de sclerae zijn geelachtig verkleurd, de slijmvliezen wat bleek. Veel caries dentium. Geen lymphklierzwellingen. Temperatuur is normaal; pols is regulair, aequaal, wat klein en wat week.

Aan de thoraxorganen worden geen afwijkingen gevonden.

Op 't abdomen is een litteeken van appendectomie; de milt is even voelbaar, de lever niet. Buik is nergens drukpijnlijk.

De pupillen zijn rond, even groot, reageeren prompt op licht en convergentie; hoofdzenuwen intact; knie- en achillespees-reflex is beiderzijds hoog, geen clonus; normale voetzool-, cremaster- en buik-reflex. Armreflexen levendig. Faeces hebben normale kleur. *Urine:* geel van kleur, zuur, SG 1010, albumen-, glucose-, galkleurstoffen-, urobiline + reactie van Hay —.

Bij maagonderzoek na proefontbijt blijkt, dat de zoutzuuraciditeit 8, de totale aciditeit 40 is. Er is 120 c.c. maaginhoud uitgeheveld.

Bloedonderzoek: 4 Jan. 1924.

Aantal erythrocyten	2.100.000
Gec. haemoglobine Sahli	50%
kleurindex	1.19
aantal leucocyten	8900
myelocyten	1
staafkernigen	$4^1/_3$
segmentkernigen	$64^1/_3$
eosinophile leucocyten	$3^2/_3$
mestcellen	$1^2/_3$
monocyten	$8^1/_3$
lymphocyten	$15^2/_3$
normoblasten	1
polychromosie	+++
vitaalkleurbaren	40%

Resistentie der ongewasschen erythrocyten:
beginhaemolyse bij 0.60 %.
eindhaemolyse bij 0.40 %.
Reactie van Wasserman: negatief.
Reactie van Hijmans van den Bergh 8/200.000 indirect; directe reactie negatief.
De urobilinemeting leverde de volgende waarden:

Datum	Hoeveelheid urine in cM^3.	Hoeveelheid urobiline der urine in mG.	Hoeveelheid faeces in Grammen	Hoeveelheid urobiline in faeces in mG.
Jan. 11	2300	6.5	—	—
„ 12	1800	4.-	585	3790
„ 14	3000	4.9	—	—
„ 15	1600	10.5	245	1252
„ 16	2000	11.6	—	—
„ 17	2050	5.-	190	741
„ 18	2000	2.6	174	1785
In 7 dagen	14700	45.1	1194	7568
Per dag	2100	6.4	170	1081

Per 100 G. faeces 634 mG.

Per dag scheidt hij dus uit 1087 mG. urobiline, wat overeenkomt met evenzooveel bilirubine en met 1123 mG. haematine.

Het gewicht van den patient is 73.5 K.G. Hij bezit dus 3675 G. bloed, 257.25 G. haemoglobine en 11.50 G. haematine, als we in aanmerking nemen, dat zijn haemoglobinegehalte slechts 50 % is.

Deze man breekt dus zijn bloed in $\frac{11500 \text{ mG.}}{1123 \text{ mG.}} \times 1 \text{ dag} =$ 10 dagen af; dit is veertien maal zoo vlug als normaal. Per dag verbruikt hij $\frac{1087 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}}$ of 7 maal zooveel bloed, als een normaal persoon.

De patient, die 19 Januari op verzoek uit het Binnengasthuis werd ontslagen, houdt thuis verder strenge bedrust. Tijdens deze rustkuur wordt in de week van 25 Februari tot 1 Maart wederom bij hem het bloed nagekeken en de urobiline-uitscheiding bepaald. De urine was wederom als op 4 Januari.

Bloedonderzoek: 24 Februari 1924.

Aantal erythrocyten	3.360.000
gecorrigeerde haemoglobine	70%
kleurindex	1.06
leucocyten	6950
myelocyten	1.3
staafkernigen	6 1/3
segmentkernigen	66
eosinophile leucocyten	3 2/3
mestcellen	1/3
monocyten	9 2/3
lymphocyten	13 1/3
normoblasten	—
polychromasie	+ +
vitaalkleurbaren	16%

Resistentie der ongewasschen erythrocyten:
beginhaemolyse 0.52 %.
eindhaemolyse 0.40 %.

Reactie Hijmans van den Bergh 3.2/200.000 indirect; direct negatief.

De urobiline-uitscheiding leverde de volgende getallen:

Datum	Hoeveelheid urine per dag in c.M.³	Hoeveelheid urobiline in de urine per dag in mG.	Hoeveelheid faeces in Grammen	Hoeveelheid urobiline in faeces in mG.
Febr. 25	2050	0.8	220	665
„ 26	1700	0.5	—	—
„ 27	2100	1.2	—	—
„ 28	2250	2.2	128	796
„ 29	2150	1.2	—	—
Mrt. 1	2200	3.9	64	366
In 6 dagen	12450	9.8	412	1827
Per dag	2075	1.6	69	304.5

Per 100 G. faeces 443.3 mG.

Per dag scheidt hij dus uit 306 mG. urobiline, wat overeenkomt met een gebruik van 316 mG. haematine.

Zijn gewicht is 25 Februari 74 K.G.; 't haemoglobinegehalte van zijn bloed is 70 %. Hij bezit dus 3700 G. bloed, dat 368 G. haemoglobine bevat en 16.5 G. haematine. Hij

verbruikt dus zijn heele hoeveelheid bloed in $\frac{16500 \text{ mG.}}{316 \text{ mG.}}$ $\times$ 1 dag = 52 dagen, of 2.6 maal zoo vlug als een normaal mensch het doet. Hij verbruikt per dag $\frac{306}{150}$ is tweemaal zooveel bloed als de normale mensch.

Onder *index van bloedafbraak*, I, willen we verstaan de snelheid, waarmede een patient zijn bloed afbreekt, vergeleken met een normaal persoon. Noemen wij die snelheid voor den normalen mensch 1. dan is zij b.v. voor patient van B. in de maand Januari 10, in de maand Februari 2. Men ziet uit deze definitie, dat de absolute tijd, die een normaal persoon voor de afbraak van al zijn bloed noodig heeft, niet in de formuleering is opgenomen. Volgens ons inzicht bedraagt deze tijd ongeveer 140 dagen. Mocht dit inzicht later gewijzigd worden, dan blijft niettemin bovenstaande formuleering ongewijzigd bestaan.

Stellen we nu de verschillende factoren, die ons een inzicht in de bloedafbraak en aanmaak kunnen geven, naast elkaar op, dan krijgen we het volgende overzicht, dat ons doet zien, hoe alle factoren een sterke verbetering van den patient aanwijzen:

Datum	Getal erythrocyten	haemoglobine gehalte	kleurindex	vitaalkleurbaren	reactie Hijmans v.d. Bergh	Uitgescheiden urobiline per dag	index v. bloedafbraak
4/1	2.100.000	50 %	1.19	40 %	8/200.0000	1081 mG.	14
24/2	3.360.000	70 %	1.06	16 %	3.2/200.0000	304.5 „	2.6

We hebben hier met een vrij uitgesproken geval van verkregen haemolytischen icterus te doen: bilirubinaemie zonder bilirubinurie, urobilinurie, vermeerderde urobiline-uitscheiding met de faeces en verminderden weerstand der roode bloedlichaampjes; alleen de miltvergrooting is zeer gering. Tijdens de heele waarneming is de temperatuur van den patient niet boven de 37° C. geweest.

2. Mej. F. 22 jaar, kreeg eind Juni 1923 malaria tertiana, waarvoor ze met kinine werd behandeld. In de laatste week van Juli kreeg ze icterus, die een week duurde en die haar

niet erg ziek maakte. Aan 't eind van die week verdween de geelzucht, om ongeveer een week later terug te komen. Ze begon nu met hoofdpijn, misselijkheid en braken en ook maagpijn, terwijl er hooge koorts bij was. Door haar huisarts werd in de urine nooit bilirubine gevonden, wel urobiline, terwijl de faeces niet ontkleurd waren. Bij inkomst in het Ziekenhuis op 15 Augustus bestaan nog dezelfde klachten. Ze klaagt over gebrek aan eetlust en over buitengewone moeheid.

Heeft als kind kinkhoest en mazelen gehad; menstruatie begon op 12½ jaar, is regelmatig; in den laatsten tijd last van fluor albus. Familieanamnese niets bijzonders; patiente is ongetrouwd.

Status Praesens.

Patiente maakt erg zieken indruk, ligt actief in bed, geeft op alle vragen een correct antwoord. Ze is goed gebouwd, heeft een goeden voedingstoestand, de huid ziet lichtgeel, de sclerae geel; slijmvliezen zijn anaemisch; tong droog en beslagen, goed gebit. Pols is 116, regulair, aequaal, goed gevuld, normaal gespannen, temperatuur is 39,2°.

Aan de borstorganen worden geen afwijkingen, behalve een systolische souffle aan het ostium pulmonale, gevonden.

De lever is niet palpabel, de milt wel; de buik is nergens drukpijnlijk.

De pupillen zijn gelijk en rond en reageeren prompt op licht en convergentie; pees-, periost- en huidreflexen zijn alle normaal aanwezig.

Faeces hebben normaal uiterlijk.

Urine: donkergeel, reactie zuur, Sg. 1014, Albumen —; glucose —; galkleurstoffen +, urobiline +; ***Reactie van Hay*** negatief.

Bloed.

erythrocyten		1.040.000
haemoglobine		25 %
kleurindex		1.25
leucocyten		2800
metamyelocyten		1
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	16
segmentkernige		36
monocyten		15
lymphocyten		32
normablasten		aanwezig

Malaria tertiana, schizonten en vrouwelijke gameten aanwezig.

Reactie van Hijmans van den Bergh: direct —, indirect 7/200.000.

Reactie van Wasserman negatief.

Weerstandsvermogen der erythrocyten:

begin-haemolyse 0.48 %,

eind-haemolyse 0.35 %.

De bilirubinurie heeft slechts één dag bestaan, daarna was er alleen urobilinurie, die echter na 25 October niet meer aanwezig was. Quantitatieve urobilinebepalingen zijn vóór dezen datum niet verricht. Hier volgt een lijstje van de temperatuur in de eerste dagen:

Datum	6 uur v.m.	11 uur v.m.	3 uur n.m.	6 uur n.m.	
15 Aug. '23 . .			39.2	38.8	
16 „ „ . .	37.9	39.9	39.9	39.1	
17 „ „ . .	38.4	40 6	39.1	40.1	
18 „ „ . .	38.5	39.7	40.2	39,8	kinine
19 „ „ . .	36.9	37.7	38.6	39.2	
20 „ „ . .	37	37.3	36.4	37.2	
21 „ „ . .	36.7	37.3	37.1	37.2	
22 „ „ . .	37	36.9	36.7	37.1	
23 „ „ . .	36.6	37.1	37.1	37.3	

Daarna bleef de temperatuur het type, zooals het na 20 Aug. voorkomt, behouden.

Patient ging heel weinig vooruit in den beginne, de koorts was wel gezakt onder invloed van kinine, de milt werd wel kleiner, maar de icterus bleef met wisselende intensiteit en ook het bloedbeeld veranderde weinig. Malariaparasieten werden niet meer gevonden. De anaemie bleef bestaan en het getal vitaalkleurbaren was groot, van 40 tot 50 %.

Omstreeks de maand December trad er een verbetering in en in dien tijd geschiedde een urobilinebepaling.

Op 10 December was de toestand aldus:

Urine: bilirubine neg.; urobiline neg.; *reactie van Hay negatief.*

Bloed.

erythrocyten	2.670.000
haemoglobine (gecorrigeerd)	65%
kleurindex	1.2
leucocyten	4200
staafkernigen	3 1/3
segmentkernigen	54
eosinophile cellen	1 2/3
mestcellen	2/3
monocyten	8 1/3
lymphocyten	31 1/3
normoblasten	1/3
polychromasie	+
vitaalkleurbaren	16%

Weerstand der erythrocyten :
begin-haemolyse bij 0.42 %,
eind-haemolyse bij 0.35 %.
Reactie van Hijmans van den Berg: direct —; indirect 5.8/200.000.

De urobiline-uitscheiding bedroeg toen in de faeces (in de urine was geen urobiline):

Datum	Hoeveelheid faeces in G.	Hoeveelheid urobiline in mG.
December 10	—	—
„ 11	300 G.	1728 mG.
„ 12	—	—
„ 13	550 „	2310 „
„ 14	—	—
„ 15	250 „	1464 „
In 6 dagen	1100 G.	5502 mG.
Per dag	183 „	917 „
Per 100 G. faeces	500 mG.	

Per dag scheidde de patiente dus uit: 917 mG. urobiline, dat afkomstig is van 948 mG. haematine.

Het gewicht van patiente was toen 64 K.G .Ze bezat dus 3200 G. bloed. Het haemoglobinegehalte was 65 %, zoodat

ze bezat 288 G. haemoglobine, die 12.9 G. haeematine bevatte. Ze verbruikt haar bloed dus in $\frac{12900}{948}$ mG. $\times$ 1 dag $=$ 13.6 dagen of in een rond cijfer, in 14 dagen, 't geen tien maal zoo snel is als normaal. Ze verbruikt per dag $\frac{917 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}} =$ 6 maal zooveel bloed als in normale omstandigheden.

In de dagen van 18 tot 28 Februari is bij haar wederom een bepaling gedaan. Er werd toen gevonden:

Urine: *urobiline negatief*, bilirubine eveneens negatief; *reactie van Hay negatief*.

Bloed.

Erythrocyten	3.300.000
haemoglobine	60%
kleurindex	0.90
leucocyten	2900
staafkernigen	$9^1/_3$
segmentkernigen	50
eosinophile cellen	$^2/_3$
mestcellen	$^2/_3$
monocyten	$12^1/_3$
lymphocyten	27
normoblasten	—
polychromasie	+
vitaalkleurbaren	10%

Weerstandsvermogen der erythrocyten:
begin-haemolyse bij 0.45 %,
eind-haemolyse bij 0.35 %.

Recatie van Hijmans van den Bergh: direct —, indirect 3.7/200.000.

Datum	Hoeveelheid faeses in G.	Hoeveelheid urobiline in mG.
Febr. 18	271	1405
„ 19	217	703
„ 20	—	—
„ 21	330	990
„ 22	218	384
„ 25	—	—
„ 26	254	1036
„ 27	—	—
„ 28	351	1095
In 9 dagen	1641	5713
Per dag	182	635

Per 100 G. faeces 348 mG.

Per dag scheidde de patiente uit 635 mG. urobiline, dat geleverd wordt door 648 mG. haematine.

Het gewicht van de patiente was toen 66 K.G., haar haemoglobinegehalte 60 %. Ze bezat dus 3300 G. bloed, dat 286 G. haemoglobine en 12.8 G. haematine bevatte. Zij verbruikte haar bloed dus in $\frac{12800}{648}$ mG. $\times$ 1 dag $=$ 20 dagen, dat is 7 maal zoo vlug als normaal. Ze gebruikte per dag vier maal zooveel bloed als een normaal mensch. De verkregen waarden worden dan voor beide weken:

Datum	Getal erythrocyten	haemoglobine gehalte	kleurindex	vitaalkleurbaren	reactie Hijmans v.d. Bergh	Uitgescheiden urobiline per dag	index v. bloedafbraak
Dec. '23	2.670.000	65%	1.2	16%	5.8/200.000	917 mG.	10
Febr.'24	3.300.000	60%	0.94	10%	3.7/200.000	635 „	7

Ook hier ziet men ,zooals bij het eerste geval, hoe met een verbetering van den algemeenen toestand alle cijfers, die op de bloedafbraak betrekking hebben, kleiner worden. Omgekeerd kan men dus ook zeggen, dat, wanneer de waarden, die op de bloedafbraak betrekking hebben, kleiner worden, de algemeene toestand vooruitgaat.

Dit tweede geval is in vele opzichten zeer merkwaardig. In de eerste plaats valt ons op, dat het weerstandsvermogen der roode bloedlichaampjes niet veranderd is. Het eens door Chauffard, als voor haemolytischen icterus zoo karakteristieke symptoom beschreven verschijnsel der verminderde resistentie, ziet men volgens verschillende schrijvers als Widal, Eppinger, Nägeli, niet constant; volgens hen komen er gevallen voor, waarbij de weerstand der erythrocyten niet verandert, zooals ook in het hier beschreven geval.

Het tweede, dat ons opvalt, is, dat zulk een groote bloedafbraak als bij deze patiente plaats heeft, kan voorkomen zonder tot urobilinurie aanleiding te geven. Slechts tot 25 October heeft dit verschijnsel in de urine bestaan; daarna is nooit meer urobiline in de urine gevonden. Wel groot is bij haar het vermogen der lever om het toegevoerde haemoglobine in bilirubine om te zetten en tevens te zorgen, dat

geen urobiline in de groote circulatie komt. Naar aanleiding van dit geval zei ik op blz. 8, dat het vermogen der lever om urobiline te verwerken, individueel zeer verschillend is. Hier komt de waarde van het urobiline-onderzoek in de faeces wel sterk naar voren; oogenschijnlijk is er geen vermeerderde urobilinevorming wegens het ontbreken der urobilinurie, maar het faecesonderzoek leert 't tegendeel. Ook Eppinger heeft eens een dergelijk geval waargenomen.

Onderzoekingen in het duodenaalsap bij haemolytischen icterus zijn door mij niet gedaan.

Giffon, Sanford en Szlapka hebben dit in eenige gevallen onderzocht en vonden sterk verhoogde waarden. Nemen ze, werkende met de methode van Wilbur en Addis, 1000 „units" als normaal aan, dan kregen ze, urobiline- en urobilinogeen-waarden gezamenlijk opgeteld, de volgende cijfers: 4000; 8800; 5600; 2200; 1400; 4400 en 3000 „units" bij 7 verschillende gevallen. Zoo vonden Bondi en Charnas bij een geval van haemolytischen icterus 13 mG. urobilinogeen in 100 cM^3. duodenaalsap, waarbij Bondi opmerkt, dat dit getal in de zuivere gal hooger moet zijn, aangezien bij het duodenaalsap veel pancreassap was.

De splenectomie wordt, evenals bij den aangeboren, ook bij den verkregen icterus haemolyticus aangeraden. Eppinger beschrijft er 2 gevallen van; in het eene geval valt de urobilinewaarde der faeces van 1.34 G. op 0.42 G. en in het andere van 1.9 G. op 0.2 G.

Bij onze patienten is tot nu toe geen splenectomie verricht. Wij vonden bij hen ook geen galzure zouten, 't geen geheel overeenkomt met de ervaring van Eppinger en van Brulé.

B. De Pernicieuse Anaemie.

Van deze ziekte kwamen een achttal gevallen ter observatie.

Hoewel het oog van den geoefenden clinicus haar in haar uitgesproken gevallen meestal gemaklijk herkent, is toch voor de diagnose het bloedbeeld onontbeerlijk, vooral wan-

neer de ziekte in haar begin is of in een remissiestadium verkeert of zich uit in symptomen, b.v. ruggemergsverschijnselen, waarvan de oorzaak zonder bloedbeeld niet te vinden is. In het kort samengevat geeft het bloed het volgende beeld: de kleur van het serum is donkerder dan normaal; de reactie van Hijmans van den Bergh is altijd indirect positief. Het getal erythrocyten is sterk verminderd, sterker dan het haemoglobinegehalte, zoodat de kleurindex grooter dan één wordt. Die verhoogde kleurindex maakt, dat de erythrocyten goed kleurbaar zijn. Men vindt poikilo- en anisocytose, vooral megalocyten, normoblasten en zeer in 't bijzonder megaloblasten, al moet men vaak zeer lang zoeken. Er is thrombopenie en leucopenie; vooral de polynucleaire neutrophile leucocyten zijn verminderd, terwijl de lymphocyten in absoluten zin geen wijziging in aantal ondergaan. De monocyten en eosinophile leucocyten zijn eveneens sterk verminderd.

De symptomen, die op verhoogde bloedafbraak wijzen en die men slechts zelden en dan nog voorbijgaand mist, zijn de hyperbilirubinaemie zonder bilirubinurie, de urobilinevermeerdering in de faeces en in de urine. H a n n e m a heeft hierover een uitgebreid onderzoek gedaan, dat we in onderstaande tabel samenvatten. De methode van urobilinebepaling door H a n n e m a gebruikt, is een eenigszins gewijzigde methode van S a i l l e t, zooals op blz. 25 staat vermeld. Volgens een persoonlijke mededeeling van hem is met deze methode 130 mG. urobiline in de faeces per 24 uur het normale getal, hoeveelheden van 200 tot 300 mG. zeggen weinig, eerst als 800 mG. of meer in de faeces gevonden wordt, wijst dit op verhoogde bloedafbraak.

Waar zijn onderzoekingen grootendeels vielen in den tijd, dat de reactie van Hijmans van den Bergh nog geen of slechts heel weinig ingang in de kliniek had gevonden, vindt men het bilirubinegehalte van het serum nog bepaald volgens de methode van H a y e m, waarbij bilirubinehoudend serum op salpeterigzuurhoudend salpeterzuur wordt gebracht, waarbij op het scheidingsvlak een blauwe ring optreedt. Deze reactie is niet erg gevoelig en in normaal serum in den regel negatief; indien de reactie bij verdund

serum dus nog positief is, bestaat hyperbilirubinaemie. Deze laatste quantitatieve aanvulling van de methode is afkomstig van Gilbert.

	Urobilinurie	Reactie van Hayem	Hoeveelheid urobiline per dag in de faeces in G.
1	+	1 : 10	3.2
2	+	1 : 3½	1.29
3	+	1 : 3	0.9
4	+	1 : 3	1.12
5	+	1 : 3	3.2
6	+	1 : 3	5.—
7	+	1 : 5	2.—
8	+	1 : 4	1.42
9	+	1 : 3	0.93

Hij vond dus bij al zijn gevallen een vrij sterke bilirubinaemie en een groote uitscheiding van urobiline met de faeces. Hannema vond met de diazoreactie, dat bij al zijn gevallen van pernicieuse anaemie, de reactie indirect was.

Eppinger geeft ook cijfers betreffende de urobilineuitscheiding bij leiders aan pernicieuse anaemie. Bij 8 gevallen vond hij:

	Urobilineuitscheiding in G. in de faeces per 24 uur
1	0.58 — 0.65
2	0.36 — 0.40
3	0.60 — 0.78
4	0.93 — 1.14
5	0.93 — 1.14
6	0.47 — 0.50
7	0.70 — 0.80
8	0.50

Wanneer we in aanmerking nemen, dat volgens Eppinger-Charnas 0.13 G. de normale hoeveelheid uitgescheiden urobiline per 24 uur is, dan blijkt duidelijk, dat zijn patienten een sterk vermeerderde uitscheiding, dus ook verhoogde bloedafbraak hadden. In 't duodenumsap van lijders aan pernicieuse anaemie vonden Giffin, Sanford en Szlapka verhoogde urobilinewaarden; werd 't bloedsbeeld beter, dan verminderde 't getal urobiline-units in de gal.

Thans gaan we over tot het bespreken van het eigen materiaal.

1. L. M., sigarensorteerder van beroep, 48 j., is in October 1922 gaan klagen over kouwelijk gevoel, doode vingers, gebrek aan eetlust. Hij kreeg pijn in de tong, hij had toen last van duizeligheid en licht gevoel in het hoofd, werd lusteloos en kortademig na beweging. Hij is bleek geworden in den laatsten tijd; is erg dorstig. Met dezelfde klachten werd hij 10 April 1923 in het Binnengasthuis opgenomen, waar men bij hem geen afwijkingen vond aan borst- of buikorganen; maar 't volgende bloedbeeld:

erythrocyten		1.500.000
haemoglobine		36%
kleurindex		1.2
leucocyten		3300
promyelocyten		1 1/2
myelocyten		1/2
staafkernige	polynucleaire neutrophile leucocyten	1
segmentkernige		61
eosinophile leucocyten		1 1/2
basophile „		—
monocyten		6 1/2
lymphocyten		28
megalobasten		4

aniso- en poikilocytose, megolcytose en polychromasie.

Hij wordt 17 Mei 1923 ontslagen met 2.830.000 erythrocythen, 3100 leucocyten, haemoglobine 75 %, kleurindex 1.3.

Hij wordt 13 November 1923 opnieuw in het Binnengast-

huis opgenomen wegens snelle vermoeidheid, zelfs op bed is hij moe. Hij is soms duizelig en licht in het hoofd, dan weer bonst het er in. Slechte eetlust; gauw misselijk, trage ontlasting, die donker ziet. Hij is bleeker en magerder geworden.

Patient is getrouwd en heeft een gezond kind. Heeft wel gonorrhoe, geen lues gehad.

Status Praesens.

Patient ziet er moe en zeer anaemisch uit; goede voedingstoestand, ligt actief in bed, geeft op alle vragen prompt antwoord; is niet icterisch, cyanotisch of dyspnoisch. Pols is 88, regulair, aequaal, wat week. Tong is glad.

Aan de organen van borst en buik worden geen afwijkingen gevonden. De patella- en achillespeesreflexen zijn beiderzijds afwezig, buik- en cremasterreflex aanwezig, normale voetzoolreflex; pupillen zijn gelijk en rond, reageeren prompt op licht en convergentie.

Temperatuur was iets onregelmatig, is echter nooit boven de 37.8° geweest. *Urine:* lichtgeel, zuur, Sg. 1014, albumen negatief, glucose negatief, urobiline +, bilirubine —, Reactie van Hay negatief.

Bloed.

erythrocyten	1.900.000
haemoglobine	45%
kleurindex	1.18
leucocyten	3700
myelocyten	1
metamyelocyten	1
staafkernigen	1
segmentkernigen	$57^1/_2$
eosinophile leucocyten	$3^1/_2$
basophile „	1
monocyten	$5^1/_2$
lymphocyten	$29^1/_2$

Megaloblasten en normoblasten aanwezig, evenals poikylo- en aniso-cythose en polychromasie.

Reactie van Wassermann 0.1 positief. Reactie van Hijmans van den Bergh direct —, indirect 1.44/200.000.

De urobiline-uitscheiding in faeces en urine bedroeg:

Datum 1923	Hoeveelh. urine per dag in cM.³	Hoeveelheid urobiline per dag in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Nov. 19	1680	17	140	448
„ 20	1860	11	244	1269
„ 21	1900	7	68	408
„ 22	2280	8	24	94
„ 23	1420	3	74	357
„ 24	1520	2	445	2323
In 6 dagen	10660	48	995	4899
Per dag	1776	8	166	816.5

Per dag scheidt de patient dus uit 824.5 mG. urobiline, afkomstig van 833 mG. haematine.

Gewicht van den patient is 59 K.G. ,haemoglobinegehalte 45 %. Hij bezit derhalve 2950 G. bloed, dat 185 G. haemoglobine en 8.2 G. haematine bevat. Hij verbruikt dus zijn heele hoeveelheid bloed in: $\frac{8{,}2\ \text{G.}}{833\text{mG.}} \times 1\ \text{dag} = \pm 10$ dagen.

De *index van bloedafbraak* is dus 14.

Hij gebruikt per dag $\frac{833\ \text{mG.}}{150\ \text{mG.}} = 5\frac{1}{2}$ maal zooveel bloed als een normaal mensch. Patient verlaat op eigen verzoek begin Januari 1924 het ziekenhuis.

2. De W., van van 47 j., is van 9 April tot 12 Mei 1923 in het Burgerziekenhuis behandeld voor dezelfde klachten, waarmee hij thans, 3 Januari 1924, in 't Binnengasthuis is opgenomen. Hij klaagt voornamelijk over moeheid, die nu al weer twee maanden bestaat; het kwam vrij plotseling met oorsuizen. Heeft in den laatsten tijd last van zijn tong gekregen, is mislijk en moet braken. Ontlasting en urineloozing is normaal. Bij inspanning krijgt hij spoedig last van hartkloppingen en is snel vermoeid.

Heeft geen venerische ziekten gehad.

Status Praesens.

Patient is sterk anaemisch, maakt een zeer zwakken doch geen zieken indruk, is goed compos mentis; wat „gedunsen" gelaat.

Tong wordt recht uitgestoken, is vochtig, licht beslagen, iets atrophisch.

De pols is 100, regulair, aequaal, week en weinig gespannen.

Aan de organen van borst en buik worden geen afwijkingen gevonden.

Pees-, periost- en buikreflexen zijn alle normaal; pupillen zijn even groot en rond, reageeren goed op licht en convergentie. Hoogste temperatuur tijdens het verblijf in het ziekenhuis is 37.7° geweest.

Urine: geel van kleur, reactie zuur, Sg. 1012, albumen —, glucose —, galkleurstoffen —, urobiline +; reactie van Hay negatief.

Bloed.

erythrocyten	960.000
haemoglobine	25%
kleurindex	1.3
leucocyten	3800
myelocyten	1/3
staafkernigen	4 1/3
segmentkernigen	54 1/3
eosinophile cellen	2/3
mestcellen	—
monocyten	3 1/3
lymphocyten	34 1/3
megaloblasten	2
normoblasten	2/3
polychromosie	+ +
vitaalkleurbaren	5%

Aniso- en poikilocytose; reactie van Wassermann is negatief. Reactie van Hijmans van den Bergh direct —, indirect + 3.36/200.000. De urobiline-uitscheiding met faeces en urine bedroeg:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Jan. 14	1460	5	—	—
„ 15	1510	5.4	70	580
„ 16	1360	1.3	45	290
„ 17	1050	4	—	—
„ 18	1560	5.6	—	—
„ 19	1250	4	70	420
„ 21	2100	3	—	—
„ 22	1050	1.9	17	114
„ 23	1050	1.9	—	—
„ 24	1100	2.4	—	—
„ 25	1150	6	—	—
„ 26	1050	3	105	1046
„ 28	—	—	68	628
In 12 dagen	15690	43.5	In 13 dgn 375	3078
Per dag	1307	3.6	29	237

De hoeveelheid uitgescheiden urobiline per dag bedraagt in dit geval 240 mG., dat het eindproduct is van 245 mG. haematine. Het gewicht van den patient is 66 K.G., 't haemoglobinegehalte 25 %, zoodat hij dus heeft 3300 G. bloed, dat 115.5 G. haemoglobine en 5.16 G. haematine bevat. Hij verbruikt zijn bloed dus in $\frac{5.16\ \text{G.}}{245\,\text{mG.}} \times 1$ dag $= 21$ dagen.

De *index van bloedafbraak* is I $= 6.7$. De patient gebruikt per dag $\frac{240\ \text{mG.}}{150\ \text{mG.}} = 1.6$ maal zooveel bloed als een normaal persoon.

In dit geval demonstreert zich het nut van de indexbepaling. Oogenschijnlijk scheidt hij een bijna normale hoeveelheid urobiline per dag uit, maar in werkelijkheid breekt hij zijn bloed nog 6 maal zoo vlug af als een normaal persoon. Deze patient is op 28 Januari 1924 op eigen verzoek ontslagen.

3. K. D., 52 jaar, scheepsmaker van beroep, komt 14 Fe-

bruari 1924 in het Binnengasthuis. De tegenwoordige ziekte heeft zich twee jaar geleden voor het eerst vertoond. Hij heeft last van moeheid, kortademigheid, vooral na trappenklimmen, oorsuizen, koude handen en voeten, die krachteloos zijn. Tong doet geen pijn, eetlust is goed, is nooit mislijk en braakt ook niet. Ontlasting en urineloozing zijn normaal. Lijdt aan slapeloosheid. Patient rookt veel, drinkt de laatste 20 jaar geen alcohol meer. Op 7-jarigen leeftijd haemoptoë; op 17 jaar lues en gonorrhoe, en op 19 jaar wederom een haemoptoë.

Status Praesens.

Patient is zeer mager en sterk anaemisch; ligt actief in bed, is goed compos mentis, sclerae zijn geelachtig getint; tong is vochtig, niet beslagen, glad. Huid is bleekgeel. Pols 84, regulair, aequaal, van matige vulling en spanning.

Aan de pulmones zijn geen afwijkingen; het hart is niet vergroot bij percussie, terwijl bij auscultatie aan alle ostia een systolische souffle is te hooren.

Lever komt voor 3 vingerbreed onder de ribbeboog uit, de rand is wat vast; milt is even te voelen.

Kniepeesreflexen zijn hoog, de andere pees-, huid- en periostreflexen zijn levendig. De temperatuur kwam den eersten dag tot 38.8° C., den tweeden dag tot 38.2°, den derden tot 38.4 en bleef de volgende dagen steeds even boven de 37°.

Urine is lichtgeel, reactie zuur, Sg. 1009, albumen —; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —; reactie van Hay negatief.

Bloed.

erythrocyten	1.000.000
haemoglobine	25%
kleurindex	1.25
leucocyten	4000
myelocyten	$2^1/_3$
staafkernigen	$^2/_3$
segmentkernigen	$42^1/_3$
eosinophile cellen	$3^2/_3$
mestcellen	$^2/_3$

monocyten	$4^1/_3$
lymphocyten	$38^2/_3$
polychromasie	+
megaloblasten	$4^2/_3$
normoblasten	$2^2/_3$
aniso-poikilocytose	+

Reactie van Wassermann negatief; reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 1.8/200.000. De urobiline-uitscheiding met faeces en urine is als volgt:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Febr. 18	2100	2.5	192	1244
„ 19	2050	2.3	—	—
„ 20	2000	1.2	188	654
„ 21	1750	0.7	170	783
„ 22	1875	1.-	246	803
„ 23	1850	0.6	314	708
„ 25	1750	1.-	165	391
„ 26	niet ontvangen	—	155	632
„ 27	1750	0.6	130	590
„ 28	1625	1.4	175	787
In 9 dagen	16750	11.3	In 10 dagen 1735	6592
Per dag	1860	1.25	173.5	659

De patient scheidt per dag uit 660 mG. urobiline, dat stamt van 673 mG. haematine.

Het gewicht van den patient is 66 K.G., het haemoglobine-gehalte 25 %. Hij heeft dus 3300 G. bloed, dat 115.5 G. haemoglobine en 5.16 G. haematine bevat. Hij verbruikt dus zijn bloed in $\frac{5160 \text{ mG.}}{673 \text{ mG.}} \times 1 \text{ dag} = 7.6 \text{ dagen.}$

De index van bloedafbraak is hier I = 18.4. De patient verbruikt per dag $\frac{673 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}} = 4$ maal zooveel bloed als een normaal persoon. Deze patient is thans nog in behandeling in het Ziekenhuis.

4. G. H., houtwerker van 57 jaar, wordt 31 December 1923 in het Binnengasthuis opgenomen. Hij klaagt sinds eenige weken over erge moeheid, die hem nu al 10 dagen in bed houdt. Vóór dien tijd voelde hij zich goed. Zijn bleek uiterlijk is volgens hem plotseling gekomen.

Heeft geen last van oorsuizen ,duizeligheid of hoofdpijn. De eetlust is erg slecht, de laatste weken veel diarrhee, maar nu harde ontlasting. Mictie normaal. Hij hoest den laatsten tijd wat, maar geeft niet op.

Hij is 10 jaar geleden voor een breuk geopereerd; als jongen van 18 jaar gonorrhoe, geen lues. Zijn vrouw heeft geen miskramen gehad.

Hij rookt veel en gebruikt geen alcohol.

Status Praesens.

Patient is sterk anaemisch ;maakt geen zieken, wel een zwakken indruk. Ligt actief in bed; geeft goed antwoord op de hem gestelde vragen.

De pols is 100, regulair, aequaal, week, isochroon. Tong is vochtig, niet beslagen. Ademhaling rustig. Aan de organen van borst en buik worden geen afwijkingen gevonden. De pees-, huid- en periostreflexen zijn alle normaal aanwezig.

Pupillen zijn even groot en rond, reageeren prompt op licht en convergentie. De temperatuur schommelt steeds tusschen de 37° en 38°.

Urine: geel, reactie zuur, Sg. 1018, alb. zwak +, glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —; reactie van Hay is negatief.

Maagonderzoek na proefontbijt: vrij zoutzuur afwezig; totale aciditeit 5.

Bloed.

erythrocyten		910.000
haemoglobine		25%
kleurindex		1.4
leucocyten		3700
myelocyten		$3^1/_3$
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	2
segmentkernige		$38^2/_3$
eosinophilecellen		$^1/_3$

mestcellen	—
monocyten	$3^1/_3$
lymphocyten	$45^2/_3$
megaloblasten	6
normoblasten	$^2/_3$
polychromasie	+
vitaalkleurbaren	13%
aniso- en poikilocytose	+

Reactie van Wassermann negatief, reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 1.12/200.000.

De urobiline-uitscheiding met de faeces en de urine bedroeg:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Jan. 7	1300	0.5	—	—
„ 8	1450	spoor	—	—
„ 9	1400	2.8	620	2530
„ 10	1120	—	—	—
„ 11	1250	1	—	—
„ 12	1110	4.4	245	1129
„ 14	1600	0.8	—	—
„ 15	1380	0.9	—	—
„ 16	1210	0.7	200	1928
„ 17	1520	—	380	766
„ 18	1360	—	200	631
„ 19	—	—	diarrhee	—
„ 21	625	—	70	99
„ 22	1100	4.6	176	634
„ 23	210	1	210	1129
„ 24	1225	0.4	140	484
In 15 dagen	17860	17.1	2041	9330
Per dag	1190	1.1	136	622

De patient scheidt dus per dag uit 623 mG. urobiline, die hun oorsprong vinden in 636 mG. haematine.

De patient weegt 65 K.G., zijn haemoglobinegehalte is 25 %. De patient heeft alzoo 3250 G. bloed, dat 114 G. haemoglobine en 5 G. haematine bevat. Hij breekt dus zijn bloed af in $\frac{5000 \text{ mG.}}{636 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= \pm 8$ dagen.

De *index van bloedafbraak* is dus: I = 17.5. Hij gebruikt per dag $\frac{636 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}}$ is vier maal zooveel bloed als een normaal mensch gemiddeld doet.

Bij hem zijn geen urobilinebepalingen meer gedaan. Het bloedbeeld ging echter in de volgende weken sterk vooruit.

	29 Januari	16 Februari	5 Maart
erythrocyten	1.060.000	1.340.000	1.930.000
haemoglobine	39 %	60 %	70 %
kleurindex	1.95	2.2	1,8
leucocyten	3350	3900	3600
megaloblasten	—	+	+
normoblasten	—	+	+

zoodat hij 10 Maart in tamelijk goeden toestand werd ontslagen.

5. A. T., gepensioneerd brandwacht, 60 j., wordt 27 December 1923 in het Binnengasthuis opgenomen wegens kortademigheid, vermoeidheid en druk boven de oogen. Daarbij is hij de laatste maanden opvallend bleeker geworden. Hij is erg kouwelijk. Reeds voor een paar maanden heeft hij om al deze klachten zijn werk als stoker bij de centrale verwarming moeten opgeven. Sinds twee jaar heeft hij een pijnlijke tong, waarvan hij vertelt, dat die vuurrood was en kleine pijnlijke barstjes vertoonde, maar dit is in den laatsten tijd weer verdwenen.

Patient is niet vermagerd, eetlust was den laatsten tijd slecht, maar wordt thans weer beter. Defaecatie is regelmatig.

Patient heeft in 1883 een gonorrhoe gehad; ontkent lues; matige drinker en pruimer. In 1921 pijnaanvallen gehad in de rechterlendenstreek, die daarna niet meer terug zijn geweest; in het voorjaar 1923 cystitis. Patient is sinds 1917 gepensioneerd, omdat hij te snel vermoeid was, vooral bij het trappen loopen .

Status Praesens.

Patient maakt geen zieken indruk, geeft op de hem gestelde vragen prompt antwoord. Hij ziet bleek. Lichaamsbouw is krachtig, voedingstoestand goed. Tong is glad, gewone kleur, gegroefd. Pols is 76, regulair, aequaal, van goede vulling en spanning.

Aan de organen van borst en buik zijn geen afwijkingen te vinden.

Pees-, huid- en periostreflexen zijn normaal. Pupillen zijn gelijk en rond, reageeren vlot op licht en convergentie. Rechter nasolabiaalplooi duidelijker dan linker; de n. facialis blijkt verder in zijn functie normaal, evenals de andere hoofdzenuwen.

Temperatuur is steeds beneden 37°.

Urine :lichtgeel, reactie zwak alkalisch, Sg. 1014, alb. —, glucose —, urobiline —, galkleurstoffen —. Reactie van Hay negatief.

Bloed.

erythrocyten		2.600.000
haemoglobine		75%
kleurindex		1.5
leucocyten		7000
myelocyten		1
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	4
segmentkernige		56½
eosinophilecellen		4½
mestcellen		1
monocyten		5½
lymphocyten		27½
polychromasie		+
aniso- en poikilocytose		+
megaloblasten		+
normoblasten		+

Reactie van Wassermann is negatief, reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 0.6/200.000.

De hoeveelheid urobiline met de faeces uitgescheiden (er is geen urobilinurie) bedraagt:

Datum 1924	Hoeveelheid faeces per 24 uur in Grammen	Hoeveelheid urobiline per dag in de faeces in mG.
Jan. 7	320	422
„ 8	176	231
„ 9	98	92
„ 10	186	244
„ 11	147	188
„ 12	542	351
„ 14	138	149
In 7 dagen	1607	1677
Per dag	229	240

De patient scheidt dus per dag uit 240 mG. urobiline, dat afstamt van 245 mG. haematine.

De patient weegt 74 K.G., zijn haemoglobinegehalte is 75 %, hij heeft dus 3700 G. bloed, dat 388.5 G. haemoglobine en 17.4 G. haematine bevat. Deze patient verbruikt zijn bloed dus in $\frac{17.4 \text{ G.}}{245 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= 71$ dagen.

De *index van bloedafbraak* is: I $= 2$.

Hij gebruikt per dag anderhalfmaal zooveel bloed als een normaal persoon.

Wij hebben hier blijkbaar met een geval van pernicieuse anaemie te doen, dat òf heel in den beginne is òf in een stadium van regressie verkeert. Van de symptomen, die op verhoogde bloedafbraak wijzen, laat de bilirubinaemie ons in den steek, terwijl de iets verhoogde urobiline-uitscheiding en de iets verhoogde index van bloedafbraak toch op een versnelde haemoglobine-stofwisseling wijzen. De morphologie van het bloed wijst ons hier den weg. De patient is in zeer goeden toestand eind Januari uit het Ziekenhuis ontslagen.

6. Mej. R. U., verpleegster, 36 jaar, is in Mei 1923 ziek geworden met koorts en hoofdpijn; daarbij voelde ze zich loom en lusteloos. Na vier maanden was ze zoover genezen, dat ze haar werk weer kon doen, maar de lusteloosheid bleef. Weldra nam de bleekheid weer toe, kreeg ze last van

duizeligheid, oorsuizen, sterretjes voor de oogen en hartkloppingen bij de geringste inspanning. Ze werd magerder. Slaap en eetlust zijn goed; mictie en defaecatie zijn normaal; ze menstrueert regelmatig. Ze heeft twee jaar geleden pleuritis gehad. De vader is gestorven aan een maagzweer, de moeder post partu. Een broer en een zuster zijn gezond, één zuster overleden post partu en één aan „zwakte". Ze is 17 Januari 1924 opgenomen in het Binnengasthuis.

Status Praesens.

Patiente ziet er licht anaemisch uit met gelige bijtint; ook de slijmvliezen zijn anaemisch; de sclerae subicterisch. De algemeene voedingstoestand is matig. De tong is vochtig, niet beslagen; de tanden zijn carieus.

De pols is ± 92, regulair, aequaal, van goede vulling en spanning.

Aan hart en longen zijn geen afwijkingen. De milt is niet, de lever even te voelen. De pees-, huid- en periostreflexen zijn normaal. De pupillen zijn even groot, rond, reageeren goed op licht en convergentie; de hoofdzenuwen functioneeren normaal.

De temperatuur is in den beginne steeds normaal, wordt in de maand Maart hooger en komt dan 's avonds vaak boven de 38°.

Urine: donkergeel, reactie zuur; alb. zwak +; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —.

Reactie van Hay negatief.

Maagonderzoek na proefontbijt: vrij zoutzuur afwezig, totale anaciditeit.

Bloed 28 Januari.:

erythrocyten		3.000.000
haemoglobine		75%
kleurindex		1.25
leucocyten		3500
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	1
segmentkernige		30
eosinophilecellen		1½
mestcellen		—
monocyten		1½

lymphocyten	66
polychromasie	+
vitaalkleurbaren	6%
aniso- en poikilocytose	+

Reactie van Wassermann negatief; Reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 2.4/200.000.

De hoeveelheid uitgescheiden urobiline bedroeg in faeces en urine:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM^3.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Jan. 28	1125	6	69	654
„ 29	1350	12	120	1051
„ 30	1220	15	145	800
„ 31	1300	18	—	—
Febr. 1	1570	35	88	612
„ 2	1250	28	128	664
„ 4	1125	21	50	173
„ 5	1675	30	34	562
„ 6	1750	17	—	—
„ 7	1450	12	—	—
„ 8	1625	16	144	622
„ 9	1350	13	95	602
In 12 dagen	16790	223	873	5740
Per dag	1400	18.5	73	478

De patiente scheidt per dag uit 496 mG. urobiline, dat afkomstig is van 506 mG. haematine.

De patiente weegt 66 K.G.; haar haemoglobinegehalte is 75%; ze heeft dus 3300 G. bloed, dat 346.5 G. haemoglobine en 15.5 G. haematine bevat. De patiente verbruikte haar bloed in $\frac{15500 \text{ mG.}}{506 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= 30$ dagen.

De *index van bloedafbraak* was I = 4.7. Ze verbruikte per dag 3 × zooveel bloed als een normaal mensch.

In 't algemeen genomen was de toestand niet zoo slecht. Wel was de hyperbilirubinaemie volgens Hijmans van den Bergh zeer hoog, wat op een sterke haemolyse wees, maar

de 6% vitaalkleurbaren wees toch nog op een flinke activiteit van het beenmerg, 't bloedbeeld en vooral de index van bloedafbraak gaven geen ongunstig beeld. Snel nam de ziekte echter haar funest beloop, 't geen de volgende cijfers te zien geven:

	21 Februari	12 Maart
erythrocyten	1.620.000	660.000
haemoglobine	46%	16%
kleurindex	1.44	1.2
leucocyten	3700	3300

en 15 Maart overlijdt de patiente.

Uit het sectieverslag, dat ik, evenals de volgende verslagen aan de bereidwilligheid van Prof. W. M. de Vries dank, zij het volgende vermeld:

Hart is zeer slap. Punt wordt gevormd door den linker ventrikel. Op doorsnee blijkt het endocard volkomen gaaf en glanzend met enkele kleine bloedinkjes in de rechter boezem. Papillairspieren van de linker kamer vertoonen duidelijk tijgerteekening. De linkerkamer is gedilateerd, evenals de rechter. Geen hypertrophie. De hartspier is bleek en troebel op doorsnee. Gewicht 310 G.

Lever. Oppervlak is volkomen glad en spiegelend. Vorm, grootte en consistentie zijn normaal. Op sneevlak heeft de lever geel-bruine kleur met onduidelijke leverteekening. *IJzerreactie* wordt uitgevoerd; er is makroscopisch geen positieve ijzerreactie en zooals nader bleek ook niet in milt, beenmerg en nieren.

Milt is opvallend slap. Kapsel ziet normaal uit, is fijn gerimpeld. De kleur van het oppervlak is bleek blauwrood. Op sneevlak ziet de pulpa bleekrood uit, zinkt in t.o.v. de kapsel. Aan follikels en trabekels geen afwijkingen. Pulpa is niet af te strijken. Gewicht 140 G.

7. Mej. G. R. wordt 29 Januari overgeplaatst van de afdeeling voor huid- en geslachtsziekten, waar ze een antiluetische kuur onderging, naar die voor inwendige ziekten, omdat ze steeds meer anaemisch ging uitzien. Ze moet al sedert 2 jaren elken morgen braken, heeft last van ructus

en gevoel van spanning in de maag. Daarbij voelt ze zich slap en vermoeid. Ze is erg vermagerd. Van kortademigheid of hartkloppingen heeft ze geen last. De eetlust is veel verminderd. De tong doet geen pijn. De defaecatie is normaal; mictie is frequent.

Als kind heeft ze veel gehoest en mazelen gehad. Ze is getrouwd, heeft 7 gezonde kinderen, vijf zijn er overleden en ze heeft drie maal een abortus gehad.

Status Praesens.

Patiente ziet er ziek uit, sterk anaemisch, niet icterisch; ligt actief in bed, geeft op alle vragen prompt antwoord. Ze verkeert in goeden voedingstoestand. De tong is vochtig, in het midden wat rood en aan den rand wat glad. Sclerae subicterisch. Pols is ± 96, regulair, aequaal, van matige vulling en spanning, isochroon. Aan de longen wordt de linkertop iets gedempt gevonden met enkele vochtige rhonchi, rechts hoort men onder vochtige-middelblazige rhonchi.

Het hart is bij percussie iets naar rechts vergroot; bij auscultatie aan alle ostia systolische geruischen. Lever en milt zijn niet palpabel. Pees-, huid- en periostreflexen zijn normaal aanwezig .Pupillen zijn even wijd, rond, reageeren goed op licht en convergentie. Hoofdzenuwen functioneeren normaal. De temperatuur is bij binnenkomst normaal, maar gaat weldra om de 38° schommelen, om 21 Februari plots tot 39.5° te stijgen en weet zich daar de drie volgende dagen op te handhaven.

Urine: bruin van kleur, reactie zuur, SG. 1011, albumen +, glucose — ;urobiline +; galkleurstoffen —; reactie van Hay negatief. In het sediment veel erythrocyten, enkele leucocyten, epitheelcellen, bacteriën.

Maagonderzoek na proefontbijt: achlorhydrie en anaciditeit.

Bloed. 7 Februari, 1924.

erythrocyten	770.000
haemoglobine	20%
kleurindex	1.3
leucocyten	2750
myelocyten	1/3

staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	2
segmentkernige		45
eosinophile cellen		$2^1/_3$
mestcellen		—
monocyten		3
lymphocyten		$42^2/_3$
megaloblasten		2
normoblasten		2
vitaalkleurbaren		3%
polychromasie		+
aniso- en poikilocytose		+

Vele megalo- en microcyten; matige poikilocytose; thrombopenie.

Weerstand der chromocyten:

Beginhaemolyse 0.40

Eindhaemolyse 0.27.

Reactie van Wassermann negatief. Reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 2.4/200.000.

De met de faeces en urine uitgescheiden hoeveelheid urobiline vindt men in de volgende tabel:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Febr. 4	1000	1.9	275	1426
„ 5	1450	1.2	—	—
„ 6	1750	1.-	120	527
„ 7	1050	6.7	168	762
„ 8	1350	1.9	—	—
„ 9	1370	0.7	—	—
„ 11	2000	2.-	180	968
„ 12	1500	2.7	—	—
„ 13	1350	3.1	—	—
„ 14	700	1.1	325	1997
In 10 dagen	13520	22,3	1068	5680
Per dag	1350	2.2	107	568

De patiente scheidt dus per dag uit 570 mG. urobiline, dat stamt van 580 mG. haematine.

De patiente weegt 69 K.G.; het haemoglobinegehalte is 20%; de patiente bezit dus 3450 cM. bloed, dat 96.6 G. haemoglobine en 4.3 G. haematine bevat. De patiente verbruikt haar bloed dus in $\frac{4300 \text{ mG.}}{580 \text{ mG.}} \times 1 \text{ dag} = \pm 7.5$ dag. De index van bloedafbraak is hier I = 18.7.

Deze patiente gebruikt per dag $\frac{570}{150}$ is bijna vier maal zooveel bloed als een normaal mensch.

In de volgende dagen ging de toestand iets vooruit. Den 22 Februari krijgt patiente in eens 's avonds pijn in de rechter zijde met koorts tot 39.5°. Bij onderzoek is de percussietoon niet veranderd, maar in de rechterflank is crepiteeren te hooren, eveneens beiderzijdsch achter onder. Rechts achter onder ook wat kleinblazige vochtige rhonchi; den volgenden dag zijn de pneumonische verschijnselen flink toegenomen; den 24 Februari wordt patiente erg kortademig, de pols wordt klein en frequent en 's nachts overlijdt zij.

Het bloedbeeld was op 22 Februari:

erythrocyten	1.460.000
haemoglobine	44%
kleurindex	1.5
leucocyten	11.800
staafkernigen	23
segmentkernigen	67
eosinophilen	—
monocyten	½
lymphocyten	10½

Bij de *sectie* wordt een pneumonia lobaris dextra gevonden en een carcinoma portion. uteri; die tumor is hazelnoot groot en zet zich over de portio heen voort tot in de vaginaalwand van de fornix.

Aan het sectieverslag ontleenen we het volgende:

Lever. Kapsel is glad, heeft aan de vooronderzijde van de rechterkwab een duidelijke bindweefselverdikking, doch is niet adhaerent aan het peritoneum parietale. Vorm en grootte van de lever schijnen normaal. Gewicht 1450 G.

Milt is iets vergroot; kapsel is gespannen, volkomen glad, consistentie te week; op sneevlak puilt pulpa boven kapsel

uit, is bloedrood van kleur en af te strijken. Trabekels zijn normaal te zien, follikels zijn te groot. Gewicht 260 G.

Beenmerg. Zoowel dat van de wervels, als van het sternum hebben bloedroode kleur en goede beenbalkjesstructuur. IJzerreactie wordt toegepast op lever, milt en beenmerg; valt steeds negatief uit.

Microscopie van de lever. Kapsel is wat dik; hier en daar onder 't kapsel enkele lymphocyteninfiltraatjes. Verder geen interstitieele bindweefselvermeerdering. Capillairen hebben zich in de acini hier en daar wat verwijd ten koste van de levercelbalkjes; zijn met roode bloedlichaampjes gevuld. Bij de ijzerkleuring wordt nergens ijzerhoudend pigment van de lever gevonden.

Milt. In de coupe is niets bijzonders te zien; ijzerkleuring negatief.

8. J. V., los werkman, 42 jaar, is van 10 Februari 1923 tot 30 April 1923 in het Binnengasthuis, Afd. Prof. Snapper, verpleegd geworden voor pernicieuse anaemie. Hij wordt daar 27 Augustus 1923 weer opgenomen. Hij is thans wederom gauw moe, al 's ochtends bij het opstaan, werken valt hem zwaar. Hij is gauw kortademig, heeft last van hoofdpijn en sterretjes voor de oogen.

Hij heeft nu, gelijk den vorigen keer, een pijnlijke tong, maar geen last met slikken. Hij is bleeker geworden en vermagerd.

Vroeger veel gedronken. Als kind „toevallen" gehad, 16 jaar geleden opgenomen voor hartkrampen en 12 jaar geleden voor een gonorrhoe. Is in 1920 geopereerd voor een rechter liesbreuk.

Vader en Moeder leven nog; heeft nog 8 broers en zusters, die gezond zijn, terwijl er 7 op jeugdigen leeftijd zijn overleden. Hij is voor de tweede maal getrouwd; heeft gezonde kinderen.

Status Praesens.

Bleeke man, vaalgele bijtint van de huid, maakt een indruk van erg moe te zijn, ligt actief in bed. Is niet icterisch. De

slijmvliezen zijn sterk anaemisch. Matige voedingstoestand. De tong is licht rood, glad, atrophisch.

Pols ± 96, regulair, aequaal, betrekkelijk klein, niet gespannen.

Aan longen en hart worden geen afwijkingen gevonden, behalve een systolische souffle aan de basis cordis.

Milt en lever zijn even palpabel.

Pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal aanwezig. Pupillen zijn even wijd, rond, reageeren goed op licht en convergentie; hoofdzenuwen functioneeren normaal.

De temperatuur is steeds subfebriel, komt practisch niet boven de 38°.

Urine: kleur geel, reactie zuur; Sg. 1014; alb. —; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —. Reactie van Hay negatief.

Bloed. 28 Augustus, 1923.

Patient heeft bij binnenkomst 1.160.000 erythrocyten, haemoglobine 40%, kleurindex 1.7.

Op 19 October 1923 is het als volgt:

haemoglobine		40%
leucocyten		3000
staafkernige	polynucleaire neutrophile leucocyten	5
segmentkernige		40
eosinophilecellen		2
mestcellen		—
monocyten		1
lymphocyten		52
aniso- en poikilocytose		+
polychromasie		+

Op 9 November 1923.

erythrocyten	1.250.000
haemoglobine	35%
kleurindex	1.4
leucocyten	3000

In deze dagen valt ook de bepaling van de met urine en faeces uitgescheiden hoeveelheden urobiline:

Datum 1923	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Nov. 7	1460	11.6	87	210
„ 9	1730	9.7	100	17
„ 10	1430	8.9	360	864
„ 12	1640	6.2	205	324
„ 13	1480	14	90	65
In 5 dagen	7740	50.4	842	1480
Per dag	1548	10	168	296

De patient scheidt dus per dag uit 306 mG. urobiline, dat zijn oorsprong heeft in 312 G. haematine.

De patient weegt 56 K.G., haemoglobinegehalte is 35%; hij heeft dus 2800 G. bloed, waarin 137.2 G. haemoglobine en 6.13 G. haematine. De patient verbruikt dus zijn bloed in $\frac{6.13 \text{ G.}}{312 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= \pm 20$ dagen. De *index van bloedafbraak* is I = 7.

Hij gebruikt per dag $\frac{306 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}}$, dat is 2 maal zooveel bloed als een normaal mensch.

De patient ging steeds meer achteruit en is 29 November 1923 overleden.

Aan het sectieverslag ontleenen we het volgende:

Milt. Groot, donkerblauwrood, zeer week. De vorm is wat abnormaal. Het bovenvlak is sterk gewelfd en daardoor is de hilus als het ware in een diepe groeve komen te liggen. Kapsel is glad, glanzend, vochtig en vrij doorschijnend, vertoont geen verdikkingen. Op doorsnee puilt de pulpa wat uit, is gemakkelijk af te strijken, donkerrood. Follikels, trabekels en vaten zijn slecht te zien. Gewicht 350 G.

Lever is groot, slap, vrij week van consistentie, bleekbruine kleur. Linker kwab is kleiner dan rechter, rand tamelijk scherp, geen abnormale groeven, kapsel is glad, glanzend, vochtig en doorschijnend. Teekening is onduidelijk. Porta hepatis vertoont geen afwijkingen. Vena portae is pinkdik. Op doorsnee is de lever troebel, teekening is vrijwel verdwenen, geelbruine kleur met hier en daar licht-

roode wat verheven eilandjes er in. Galgangen zijn normaal. Gewicht 1950 G.

Beenmerg van borstbeen en wervelkolom is donkerrood; ijzerreactie negatief. Beenmerg van femur in schacht: kersrood, geen vetmerg meer in te zien.

Microscopisch onderzoek.

Beenmerg (parafine coupe Giemsa).

Hierin blijken zeer weinig normoblasten aanwezig te zijn (in het uitstrijkpraeparaat van het beenmerg waren veel normoblasten gevonden); ze moeten bepaald gezocht worden. Cellen met basophile korreling zijn niet te vinden. De eosinophile cellen van allerlei typen overwegen.

Megakaryocyten zijn hier en daar te vinden. Neutrophile cellen zijn op sommige plaatsen in massa's te vinden.

Milt. In de pulpa veel erythrocyten. Hier en daar verspreid pigment (volgens ijzerreactie zitten er slechts spoortjes ijzerhoudend pigment in), verder erythroblasten, lymphocyten, leucocyten (eosinophile zoowel als neutrophile), eosinophile en neutrophile myelocyten en cellen van het type der myeloblasten. De follikels zijn klein, de arterietjes hebben vaak een verdikten, hyalinen wand.

In *nier, lever, milt* slechts spoortjes ijzerhoudend pigment.

We zullen nu nog in een tabel de voornaamste der verkregen cijfers samenvatten:

No.	erythrocyten in millioenen	haemoglobinegehalte %	Kleurindex	Vitaalkleurbaren %	Reactie v. Hijmans v. d. Bergh in Eenh.	urobiline per dag mG.	Index van bloedafbraak
1	1.9	45	1.18	—	1.44	824	14
2	0.96	25	1.3	5	3.36	240	6.7
3	1	25	1.25	—	1.8	660	18.4
4	0.91	25	1.4	13	1.12	623	17.5
5	2.6	75	1.5	—	0.6	240	2
6	3	75	1.25	6	2.4	496	4.7
7	0.77	20	1.3	3	2.4	570	18.7
8	1.25	35	1.4	—	—	306	7.4
Normaal 5		100	1	0.5	0.4 à 0.6	150	1

Wil men een goed inzicht krijgen in 't wezen van de per-

nicieuse anaemie bij een bepaald persoon, wil men de factoren kennen, die ons zullen leiden bij therapie en prognose, dan zal men zijn toevlucht moeten nemen tot de bovenstaande *formule voor de haemoglobinestofwisseling.*

In deze formule wijst de vitaalkleuring zuiver in de richting van de nieuwvorming; de reactie van Hijmans van den Bergh, de urobiline-uitscheiding en de index van bloedafbraak zuiver in die van de haemolyse, terwijl het complex: aantal erythrocyten — haemoglobinegehalte — kleurindex, als de resultante van de nieuwvorming en bloedafbraak te beschouwen is.

Nog staan de meeningen tegenover elkaar eens zoo scherp geformuleerd door Hunter eenerzijds en Ehrlich anderzijds:

Is het wezen van de pernicieuse anaemie een verhoogde haemolyse, die plaats grijpt in de milt en misschien in andere organen of is het een ziekte van het beenmerg, waardoor een veranderde en gebrekkige aanmaak der bloedlichaampjes plaats vindt?

Het sterk verminderde aantal der erythrocyten, de poikilo- en anisocytose als teekenen van degeneratie, de polychromasie, de toename der vitaalkleurbaren, de verschijning in het perifere bloed van normo- en megaloblasten als uiting van regeneratie van het beenmerg, maakt het wel zeker, dat er een agens op dit orgaan inwerkt, dat het primair ziek maakt.

De hyperbilirubinaemie, zoo gemakkelijk meetbaar als indirecte reactie van Hijmans van den Bergh, de verhoogde urobiline-uitscheiding met faeces en urine, de verhoogde index van bloedafbraak wijzen er op, dat een verhoogde haemolyse in het spel is. We zouden nog kunnen wijzen op de eigenaardige stroogele tint der lijders aan deze ziekte, hun subicterische sclerae, die ons zoo dringen in de richting van een haemolytisch proces, of kunnen wijzen op het succes in vele gevallen der splenectomie, al zal erkend moeten worden, dat deze therapie slechts tijdelijk helpt. Misschien beteekent dit laatste wel, dat niet de milt alleen, maar het heele reticulo-endotheliale apparaat abnormaal functioneert.

Dat er werkelijk een haemolyse in de milt optreedt, is wel komen vast te staan door de gegevens, die Hijmans van den Bergh ons heeft verschaft. In 6 gevallen kon hij, 'tzij

bij 't leven tijdens een miltexstirpatie of na den dood, wanneer spoedig de sectie verricht werd, aantoonen, dat het bloed van de miltader aanzienlijk meer bilirubine bevatte dan dat uit een perifere ader. In één geval kon hij na miltexstirpatie in het miltvene bloed haematine aantoonen, terwijl het in het perifere aderlijke bloed niet te vinden was, exstirpatie in het miltvenebloed haematine aantoonen, dat een haemolytische factor hier een groote rol speelt.

In overeenstemming hiermee is, dat Eppinger pathologisch-anatomisch heeft kunnen aantoonen de groote overeenkomst tusschen de milt bij pernicieuse anaemie en die bij den haemolytischen icterus.

Dat de milt alleen de functie van bloedvernieler zou vervullen, is — het is zoo juist reeds gezegd — zeker niet waar. Het feit, dat de pernicieuse anaemie na miltexstirpatie, haar volledig beeld vroeg of laat weer kan ontvouwen, bevestigt deze veronderstelling. Het meest waarschijnlijke is, dat het heele reticulo-endotheliale apparaat in abnormale functie kan verkeeren en dat, wanneer een deel er van wordt uitgeschakeld, het overige deel die functie vicarieerend overneemt.

Bij de pernicieuse anaemie hebben we dus, wat het bloed betreft, met twee factoren te doen: het zieke beenmerg en de verhoogde haemolyse. Het agens, dat deze verschrikkelijke ziekte te voorschijn roept, maakt het beenmerg primair ziek en werkt prikkelend op het apparaat, dat voor de normale bloedafbraak zorgt en nu tot een verhoogde actie wordt aangezet. Deze wegen leiden gezamenlijk tot den ondergang van het individu.

Willen we uit deze overwegingen en uit de haemoglobinestofwisselingsformule leering trekken voor de therapie, in casu of miltexstirpatie in een bepaald geval geïndiceerd is of niet, dan zal men deze operatie behooren te doen als een verhoogde haemolyse aanwezig is, zich demonstreerend in hyperbilirubinaemie en groote index van bloedafbraak en het beenmerg blijk geeft nog voldoende regeneratievermogen te hebben. We zouden nu de volgende richtsnoeren voor de splenectomie willen geven:

a. bij matig sterke bloedafbraak en goede regeneratie, afwachten;

b. bij sterke bloedafbraak en goed regeneratievermogen, splenectomie;
c. bij sterke bloedafbraak en slechte regeneratie geen operatie.

Zoo zal de formule der haemoglobinestofwisseling ons dus een wegwijzer kunnen zijn bij ons handelen en zullen we voortaan de gevallen, geschikt voor splenectomie met zorg kunnen uitkiezen. Doen we dat en sluiten we aan de operatie een bloedtransfusie aan, die nu beteekenis heeft, omdat de milt, het bloedafbrekende orgaan, verdwenen is, dan zal de teleurstelling over het verkregen succes, die volgens de litteratuur zoo vaak op de operatie volgt, heel wat minder vaak voorkomen.

C. Myelogene leukämie.

De meeste schrijvers zijn het er wel over eens, dat bij de chronische myelogene leukämie in de urine geen vermeerderde urobiline-uitscheiding is waar te nemen. Volgens Hildebrandt komt bij geen enkel ongecompliceerd geval van deze ziekte urobilinurie voor, zelfs niet als er hooge koorts bestaat. Ook leukämische en lymphatische infiltratie van de lever behoeven volgens hem niet tot urobilinurie te leiden.

Bij een geval van Hildebrandt kwam pas de urobilinurie, toen de ziekte gecompliceerd werd door een exsudatieve pleuritis, en de patient aan longtuberculose ging lijden.

Door de reeds meer geciteerde Giffin, Sanford en Szlapka kon ook in het duodenaalsap geen urobilinemeerdering bij chronische myelogene leukämie worden aangetoond.

Door mij zijn drie gevallen van myelogene leukämie onderzocht; de urobiline-uitscheiding werd nagegaan zoowel in de urine als faeces.

1. Mej. van O., 48 j., is sinds Januari 1923 gauw moe, heeft last van hoofdpijn en zweet 's nachts veel. Ze was vooral den laatsten tijd, vóór de opname in het Binnengasthuis, bedlegerig, had gebrek aan eetlust, was gauw mislijk, zonder dat het tot braken kwam en had trage ontlasting. De mictie was goed. Ze heeft daarbij den laatsten tijd een zwaar ge-

voel in den buik gekregen, is magerder en bleeker geworden. Vroeger gezond geweest. Ze is getrouwd, heeft zeven gezonde kinderen, twee zijn er gestorven, terwijl ze tweemaal een abortus heeft doorgemaakt. Ouders zijn gestorven, vader aan apoplexie, moeder plotseling aan een onbekende ziekte. Twee zusters zijn dood.

Status Praesens. 28 Augustus 1923.

Patiente maakt geen zieken indruk; is matig anaemisch, wat mager. Er zijn nergens lymphklierzwellingen, wel tandcaries, geen vergroote tonsillen, tong vochtig, gedeeltelijk beslagen.

Pols is 96, regulair, aequaal, van goede vulling en spanning.

Aan de longen zijn bij percussie geen afwijkingen te vinden; bij auscultatie overal normaal vesiculair ademen, behalve links achter onder, waar crepiteerende rhonchi zijn te hooren.

Het hart is zoowel bij percussie als auscultatie normaal.

Abdomen: soepel, nergens drukpijnlijk. De milt is sterk vergroot, reikt naar rechts 2 vingerbreed over de mediaanlijn heen, terwijl de ondergrens ter hoogte van den navel staat, vult de linker-flank. De consistentie is vast; oppervlak is glad, orgaan is niet drukpijnlijk.

Lever is palpabel; onderrand reikt tot één vingerbreed boven den navel, is half vast van consistentie, glad van oppervlak; rand is stomp.

Pees-, huid- en periostreflexen zijn normaal. Pupillen zijn even groot, reageeren goed op licht en convergentie. Temperatuur schommelt tusschen 36.5 ° 's morgens en 38 ° 's avonds.

Urine: geel van kleur; reactie zuur Sg. 1015; albumen +; glucose —; urobiline —; galkleurstoffen —; Esbach 1 $^{0}/_{00}$.

Bloed.

erythrocyten	3.500.000
haemoglobine	65%
kleurindex	0.93
leucocyten	260.000

De milt is na Augustus nog grooter geworden. Haar wordt daarom als therapie benzol toegediend. Onder deze therapie gaat ze eerst veel vooruit, de milt wordt ook kleiner.

In de laatste dagen van Januari 1924 echter is ze weer veel slechter, is duidelijk vermagerd (gewicht bij binnenkomst 62 K.G., thans 57 K.G.) en heeft 's avonds vaak *koorts* tot 39.5°. Milt komt nu bijna 3 vingerbreed onder den navel uit en staat 2 vingerbreed rechts van de mediaanlijn. Lever reikt tot drie vingerbreed onder den ribbeboog.

In pulmones geen afwijkingen, behalve enkele crepiteerde rhonchi links achter onder. Linker ondergrens staat achter 1 vingerbreed hooger dan rechts.

Urine: alb. +; glucose —; urobiline —; 't bloed bevat 215000 leucocyten, waarvan de verdeeling als volgt is:

basophile leucocyten		$9\frac{3}{4}$%
eosinophile „		8%
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	$17\frac{3}{4}$
segmentkernige		$20\frac{1}{4}$
metamyelocyten	neutrophile	$12\frac{1}{4}$
myelocyten		$17\frac{1}{4}$
eosinophile myelocyten		$2\frac{3}{4}$
promyelocyten		4
lymphocyten		$4\frac{1}{4}$
myeloblasten		$3\frac{3}{4}$
monocyten		—

Op 400 getelde leucocyten 16 normoblasten; haemoglobine gecorrigeerde Sahli 70%. Dit bloedbeeld deed de diagnose chronische myeloide leukämie onmiddellijk stellen. Met de urine wordt *geen urobiline* uitgescheiden. In de faeces vindt men de volgende waarden:

Datum 1924	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces per dag in mG.
Januari 28	75	131
„ 29	78	205
„ 30	69	176
„ 31	390	534
Februari 1	—	—
„ 2	38	142
In 6 dagen	650	1188
Per dag	108	198

Ondanks koorts, sterke milt- en leververgrooting, scheidt deze vrouw per dag maar 198 mG. urobiline uit, dat stamt van 200 mG. haematine.

Het gewicht van de patiente was tijdens de waarneming 57 K.G., het haemoglobinegehalte van haar bloed 70%, ze heeft dus 2850 c.c. bloed, dat 279 G. haemoglobine en 12.5 G. haematine bevat.

Ze verbruikt haar bloed dus in $\frac{12.5 \text{ G.}}{200 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= 62.5$ dag. De *index van bloedafbraak* is dus 2.24.

Ze verbruikt per dag niet meer bloed dan een normaal mensch maximaal gebruiken mag, een hoeveelheid, die door haar lever klaarblijkelijk nog goed kan worden ververwerkt. De anaemie, die bij deze patiente aanwezig is, berust dan ook niet op verhoogde afbraak, maar op verminderde aanmaak, wijl het erythroblastische systeem door het myeloide wordt overwoekerd. Patiente is thans nog in behandeling en wordt met X-stralen behandeld.

2. Mej. W. van L. wordt 3 October 1923 in het Binnengasthuis opgenomen. Eenige weken, voordat ze in het ziekenhuis kwam, had ze aanvallen van koorts; de temperatuursverhooging kwam 's avonds, meestal beginnend met koude rillingen, terwijl ze overdag koortsvrij was. Er waren ook dagen tusschen, dat ze geheel koortsvrij was. Drie weken na 't begin van deze koorts kreeg ze pijn in de linkerzij, waarvoor ze naar haar huisdokter ging, die een groote milt bij haar vond en haar deswege naar de poliklinick voor inwendige ziekten van het Binnengasthuis stuurde. Als ze pijn in die zij heeft, legt ze zich op den rechter kant.

Ze voelt zich goed, zweet alleen 's nachts wat veel, heeft ook wel eens wat hoofdpijn. Eetlust is goed; mictie en defaecatie zijn normaal. Er zijn geen menstruatiestoornissen.

Als kind alleen mazelen gehad. Ze is slecht hoorend. Vader is op 57-jarigen leeftijd gestorven aan longtuberculose, moeder op 62-jarigen leeftijd aan pleuritis. Ze heeft vier broers en drie zusters, die allen gezond zijn.

Status Praesens.

Patient maakt in het geheel geen zieken indruk. Ze is wat anaemisch.

Tong is vochtig, iets beslagen. Tonsillen zijn niet vergroot; de lymphklieren in hals en oksels zijn duidelijk te voelen, klein en goed beweeglijk.

Geen oedemen.

De longen zijn bij percussie normaal, links achter onder is alleen een drievingerbreede demping. Bij auscultatie geen afwijkingen te vinden.

Het hart is normaal van grootte; aan alle ostia is een systolische souffle. Abdomen is gemakkelijk te palpeeren. Milt is sterk vergroot, reikt naar beneden tot twee vingers onder de navel, naar rechts tot aan de mediaanlijn. Lever is vergroot, onderrand reikt tot even onder de umbilicus.

Pees-, huid- en periostreflexen zijn normaal aanwezig.

Pupillen zijn even groot, rond, reageeren op licht en convergentie.

Hoofdzenuwen functioneeren normaal. Temperatuur is normaal (en is het ook gebleven).

Urine: geel van kleur, reactie zuur, Sg. 1022; albumen + (zwak); glucose —; urobiline —; galkleurstoffen —.

Bloed.

erythrocyten	4.200.000
haemoglobine	70 %
kleurindex	0.83
leucocyten	240.000

Patiente kreeg een benzoltherapie, die haar vooruit deed gaan en waarbij zij in gewicht toenam; milt werd wat kleiner. Op het aantal witte bloedlichaampjes is de invloed niet te bespeuren. Midden Februari was het haemoglobine-gehalte gestegen tot 80%. Het getal leucocyten bedroeg 250.000, waarvan de procentische samenstelling was:

myeloblasten		5
promyelocyten	neutrophile	5 1/3
myelocyten		12 1/3
metamyelocyten		13 1/3
staafkernige	neutrophile	19 2/3
segmentkernige	polynucleaire leucocyten	29
eosinophile cellen		2 1/3
eosinophile myelocyten		1 2/3

basophile leucocyten	6
basophile myelocyten	3 2/3
monocyten	2/3
lymphocyten	1

Het bloedbeeld laat de diagnose gemakkelijk op chronische myeloide leukämie stellen.

Reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 0.6/200.000.

In de urine is *geen* urobiline.

In de faeces worden de volgende urobilinewaarden gevonden:

Datum 1924	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline per dag in de faeces in mG.
Febr. 25	165	89
„ 26	108	106
„ 27	95	71
„ 28	170	208
„ 29	88	98
In 5 dagen	626	572
Per dag	125	114

De patiente scheidt dus per dag 114 mG. urobiline uit, hetgeen stamt van 116 mG. haematine.

De patiente weegt midden Februari 55 K.G. en heeft een haemoglobinegehalte van 80 %. Ze bezit dus 2750 c.c. bloed, dat 308 G. haemoglobine en 13.8 G. haematine bevat. De patiente verbruikt dus haar bloed in $\frac{13.8 \text{ G.}}{116 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= 119$ dagen.

De *index van bloedafbraak* is hier dus 1.18.

De patiente verbruikte per dag een normale hoeveelheid bloed. Van bloedafbraak is hier dus practisch geen sprake. Zij wordt nog steeds in het Binnengasthuis verpleegd.

3. B. M., los werkman, 27 jaar oud, wordt 23 October 1923 voor de derde maal op de interne afdeeling van het Binnengasthuis opgenomen. Hij is sinds 't midden van 1922 lijdende aan myelogene leukämie, waarvoor hij met Röntgenstralen werd behandeld. Patient is thans, net als vroeger, erg moe

en lusteloos en nu ook slaperig. Hij is de laatste vier weken ook kortademig geworden. Hij zweet veel, vooral 's nachts en is erg dorstig.

Eetlust is slecht; hij is na 't eten erg benauwd. Ontlasting is thans regelmatig. Mictie normaal. Heeft verder geen klachten. Drinkt geen alcoholische dranken; heeft geen veneriesche ziekten doorstaan.

Status Praesens.

Patient maakt een zeer zieken indruk. Geeft op alle vragen een prompt antwoord. Hij ligt actief in bed. Geen lymphklierzwellingen. Tong is vochtig en niet beslagen. Pols is ± 84, regulair, aequaal, van matige vulling en spanning.

Aan de organen van de borstkas zijn geen afwijkingen te vinden.

Abdomen is opgezet. Milt reikt tot 3 vingerbreed onder den navel; is zeer vast van consistentie. De lever is vergroot tot aan den navel; vast.

Pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal. Pupillen zijn even groot en rond; reageeren prompt op licht en convergentie.

Temperatuur schommelt tusschen 36.5 ° en 39 °.

Urine :oranjerood van kleur; reactie zuur, Sg. 1015, alb. —; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —.

Bloed.

erythrocyten		3.000.000
haemoglobine		60%
kleurindex		1
leucocyten		91.000
myeloblasten		2
promyelocyten		4
myelocyten	neutrophile	16½
metamyelocyten		10½
staafkernige	neutrophile	14
segmentkernige	polynucleaire leucocyten	44
eosinophile leucocyten		½
eosinophile myelocyten		1½
basophile leucocyten		½
basophile myelocyten		½
monocyten		½
lymphocyten		4

Reactie van Hijmans van den Bergh direct —; indirect 2/200.000. De urobiline-uitscheiding in urine en faeces werd gemeten van 19—24 November; de bloedafwijkingen en de temperatuur hadden geen verandering ondergaan.

Datum 1923	Hoeveelheid urine per dag in c.M.³	Hoeveelheid urobiline in de urine per dag mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline per dag i. d. faeces in mG.
Nov. 19	1490	10	258	2580
„ 20	1450	16	116	710
„ 21	1480	38	72	893
„ 22	1620	31	—	—
„ 23	1830	29	126	2238
„ 24	1600	50	430	9288
In 6 dagen	9470	174	1002	15709
Per dag	1580	29	167	2618

De patient scheidt dus per dag uit 2647 mG. urobiline, die hun oorsprong vinden in 2700 mG. haematine.

De patient weegt 65 K.G., heeft een haemoglobinegehalte van 60%; hij bezit dus 3250 c.c. bloed, die 273 G. haemoglobine en 12.2 G. haematine bevat. De patient verbruikt dus zijn bloed in $\frac{12.2 \text{ G.}}{2.7 \text{ G.}} \times 1$ dag $= 4\frac{1}{2}$ dag.

Hij verbruikt per dag $\frac{2700 \text{ mG.}}{150 \text{ mG.}}$ is 18 maal zooveel bloed als een normaal persoon.

De *index van bloedafbraak* is I = 31.

Het zal niemand verwonderen, dat de patient dit niet lang volhield. Er trad weldra een snelle vermagering in, oedemen ontwikkelden zich aan de beenen en er ontstond een snel toenemende ascites. De temperatuur bleef tusschen 36.5° en 39° schommelen. De patient kwam in een zeer suffen toestand en overleed 19 December 1923.

Uit het sectieverslag wordt het volgende aangeteekend:

Milt is zeer groot. De kapsel is bedekt met fibrine; er is een pruimgroote en een knikkergroote bijmilt. De kleur is donker bruinrood. De consistentie is vast. Op de miltdoorsnee zijn eenige, nog slechts weinig bleeke, groote infarcten

te zien en een kleiner, wat bleeker infarctje. Deze zijn alle min of meer wigvormig en reiken met hun basis aan de oppervlakte. Bovendien zijn in het centrum der milt eenige erwt-groote ondoorschijnende, bleeke haardjes te zien. De follikels zijn even zichtbaar. De vaten en trabekels zijn niet verdikt. Het gewicht der milt is 1750 G.

Lever is groot, donker paarsrood. De kapsel is op enkele plaatsen bedekt met fibrine. Het sneevlak is weinig vochtig, rood, de teekening is moeilijk te zien.

De v. portae is ledig. Om de portale vaten bevinden zich een aantal gezwollen klieren. Gewicht van de lever is 3050 G.

't *Beenmerg* der wervels ziet donker, ook in 't femur; hieruit laat het zich als een donkerroode rol lichten.

Microscopisch onderzoek.

Beenmerg. In het netwerk van bindweefsel en vaten vindt men volgens het Giemsa-May-Grünwald preparaat: lymphocyten, een enkele erythroblast, wat groen gekleurde erythocyten, een heel enkele eosinophile myelocyt en leucocyt en een groot aantal myeloblasten. Ook komen er megakaryocyten in voor. Er zijn plekken in het preparaat (maar zéér weinige), waar de eosinophilie (meest myelocyten) overheerscht en waar tevens veel erythrocyten liggen.

Lever. (Giemsapraeparaat). De levercellen zijn meest smal, maar zijn goed kleurbaar en hebben mooie, ronde, donkerblauwe kernen. Tusschen capillair en levercel is een dichte vrij gelijkmatige verspreiding van myeloblasten en enkele eosinophile leucocyten en myelocyten, die hier en daar in den vorm van noduli opeengehoopt liggen, benevens lymphocyten. Bovendien liggen er nog wat erythrocyten buiten de vaten. Deze zelf zijn sterk gevuld met myeloblasten, leucocyten en lymphocyten.

Milt. (Giemsapraeparaat). De trabekels zijn sterk verdikt, verder pulpanetwerk wat verdikt en verbreed. Gebieden vol erythrocyten in het reticulum met vrijwel volkomen verdringen van andere cellen, wisselen af met andere, waarin de witte bloedcellen overheerschen. Het meest worden hierin myeloblasten gevonden, verder lymphocyten, terwijl in het reticulum nog al eens eosinophilecellen liggen, soms myelocyten, soms leucocyten of tusschenstadia. De plekken, waar

deze celophoopingen liggen, worden door breede banden van de boven aangegeven erythrocytenmassa's omgeven. In het centrum zijn geen duidelijke dikwandige arteriën (wel capillairen), zoodat het naar het schijnt, geen myeloid veranderde follikels zijn.

In hart en nieren zijn geen infiltraten.

Van de drie onderzochte gevallen voldoen de twee eerste aan den regel, dat bij deze ziekte geen urobilinurie voorkomt, waarbij het tweede geval in het geheel geen, het eerste een zeer geringe toename van bloedafbraak vertoont.

Geheel apart staat het derde geval, waarbij een enorme urobiline-uitscheiding en bloedafbraak is. Reeds vooraf was hier uit die geweldige bloedafbraak de slechte prognose te voorspellen. We vinden hier leukämische infiltraten in de lever. Zeker is, dat de zieke milt ook nog een sterke haemolytische werking heeft kunnen ontvouwen. De hier gevonden urobilinewaarden zijn de hoogste, die tot nu toe door mij gevonden zijn.

D. Cirrhosis hepatis.

Met de bespreking van hetgeen de urobilinebepaling bij deze ziekte ons geleerd heeft, verlaten we het gebied der ziekten, waar de sterk verhoogde bloedafbraak de oorzaak was van de urobilinurie. Bij de leverziekten zullen we, in het algemeen genomen, de urobilinurie willen toeschrijven aan de gewijzigde functie van de zieke lever. Het is de verdienste van P e l, dat hij in 1882 het eerst de aandacht op de urobilinurie bij cirrhosis hepatis heeft gevestigd en deze heeft beschouwd als een bijna pathognomonisch verschijnsel.

Urobilinebepalingen in urine en faeces bij cirrhosis hepatis zijn tot nu toe slechts weinig verricht. We zullen ze later bespreken en eerst overgaan tot het vermelden van de zelf waargenomen gevallen.

1. B. v. O., vroeger grondwerker, 78 jaar, wordt 21 November 1923 in het Binnengasthuis opgenomen. Hij is al ruim een half jaar ziek. Het is begonnen met icterus, waarvoor hij in het Tesselschade-Ziekenhuis werd opgenomen, waar

hij 16 weken is geweest; daarna is hij 13 weken thuis verpleegd. De voornaamste klacht thans is de steeds toenemende omvang van den buik, de kortademigheid en snelle vermoeidheid. Hij is ook magerder geworden; heeft niet veel eetlust. Defaecatie is goed, maar urineeren gaat moeilijk.

Patient heeft in jonge jaren lues gehad. Hij heeft 5 gezonde kinderen, terwijl er 12 op den leeftijd van ½—1 jaar zijn gestorven.

Status Praesens.

Patient maakt een zieken indruk, is compos mentis, ligt actief in bed, is wat dyspnoisch en cyanotisch.

Er is geen icterus.

De tong is vochtig en beslagen.

Aan de beenen een licht oedeem.

Bij inspectie van de thorax is de rechter helft wat vlakker dan de linker; beide kanten zetten gelijkmatig uit.

Bij het onderzoek van de borstkas is de linker long bij percussie en auscultatie geheel normaal. Rechts is zoowel voor als achter de top en een deel van de bovenkwab licht gedempt; bij auscultatie hoort men daar bronchiaal ademen; over 't verdere deel van de rechter long hoort men vochtige rhonchi.

Hart heeft normale grootte; tonen zijn zacht maar zuiver, 2e aortatoon is versterkt.

Abdomen is sterk opgezet; in de flanken zijn uitgezette venen; de percussie is in de flanken en beneden voor gedempt; de grens is naar boven concaaf; de demping in de flank verandert bij liggingsverandering, er is undulatie op te wekken. De lever en milt zijn niet te palpeeren.

Pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal; pupillen reageeren goed op licht en convergentie.

Temperatuur is normaal.

Urine: roodgeel van kleur, reactie zuur; Sg. 1021; alb. +; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —.

Sputum: t.b.c. bacillen negatief.

In de urine en faeces wordt de hoeveelheid urobiline bepaald, waarbij de volgende waarden gevonden worden:

Datum 1923	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Nov. 26	420	8	74	63
„ 27	270	7	100	348
„ 28	600	15	116	226
„ 29	370	14	70	158
„ 30	400	17	88	177
Dec. 1	410	11	60	56
In 6 dagen	2470	72	508	1028
Per dag	410	12	85	171

Deze patient scheidt dus met de urine 12 mG. uit en met de faeces 171 mG., samen 183 mG., 'tgeen de bovengrens van het normale niet overschrijdt. Aangezien het gewicht van het lichaam door de groote hoeveelheid ascites en de oedemen niet op te geven is, is hier een bepaling van den index van bloedafbraak niet mogelijk.

De hoeveelheid vocht in den buik nam steeds toe, zoodat herhaalde punctie noodzakelijk werd. In de punctievloeistof was de proef van R i v a l t a negatief.

Naar tuberkelbacillen is bij herhaling tevergeefs gezocht. De toestand van den patient ging meer en meer achteruit en de dood trad den 4en Februari 1924 in.

Aan het *sectieverslag* ontleenen we, dat er gevonden werd in de buik 5½ L. troebel vocht (sereuscellige peritonitis); *cirrhosis hepatis Laënnec;* in de borstkas pleuritis chronica dextra; carnificatie van de rechter bovenkwab.

De *milt* is weinig vergroot, zeer slap met rimpelig kapsel, die op verschillende plaatsen cartilagineus verdikt is. Van het sneevlak is de pulpa gemakkelijk af te strijken. De kleur is bruin. Kapsel, vaten en trabekels zijn verdikt; follikels zijn niet te zien. Grootte van 't orgaan: 13 × 9 × 2½ cM. Gewicht 185 G.

Lever veel te klein; taai van consistentie, korrelig van oppervlak. Bij het insnijden wordt een knarsend geluid gehoord. De doorsnee is donker geel, fijn korrelig. De portale vaten bevatten enkele stolsels. Geen thrombi. Gewicht 1300 G.

2. J. E., buffetchef, 53 jaar, heeft in April 1923 icterus gekregen, die ± 6 weken duurde. In Juli 1923 kreeg hij last van benauwdheid bij het trappenklimmen; dit is langzamerhand toegenomen en werd zoo erg, dat hij zijn huisarts raadpleegde, die een abnormaal dikke buik vaststelde en dikke beenen en hem daarom 24 December 1923 in het Binnengasthuis liet opnemen. De eetlust is goed gebleven; de ontlasting is regelmatig en normaal. Hij hoest wat in de laatste dagen. Geen hartkloppingen. Gedurende het laatste jaar heeft patient last van haemorrhoiden, wat hij vroeger nooit had en de laatste 5 maanden pijn in rechter schouder en arm. Heeft veertien dagen geleden een neusbloeding gehad. Geen last van hoofdpijn.

Status Praesens.

Patient maakt een lijdenden indruk. Ligt actief in bed en is goed compos mentis. Lichaamsbouw is gedrongen; voedingstoestand goed. Lichte cyanose; geen icterus. Tong vochtig, niet beslagen; slecht gebit. Pols ± 120, regulair, aequaal, klein.

De longen zijn bij percussie en auscultatie normaal. Het hart heeft bij percussie normale grootte; de harttonen zijn zacht; aan alle ostia systolische geruischen.

Het abdomen is gelijkmatig opgezet. Omtrek van de navel is 120 cM. Op de onderbuik striae. Het is niet mogelijk lever en milt te palpeeren. De palpatie is onpijnlijk. Er is een matheid in de flanken en in de onderbuik tot aan de navel; de grens van de matheid is concaaf naar boven. Matheid verandert bij liggingsverandering; geen undulatie op te wekken.

Penis, scrotum, lendenen, beenen zijn sterk oedemateus. Pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal aanwezig. Pupillen reageeren prompt op licht en convergentie. Temperatuur schommelt tusschen 36.5° en 38°.

Urine is bruingeel van kleur; reactie is zuur, Sg. 1030; alb. +; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen —.

Reactie van Hay positief.

In 't bloed is de reactie van Wassermann negatief; de reactie van Hijmans van den Bergh is direct —; indirect 3.16/200.000. De hoeveelheid uitgescheiden urobiline in urine en faeces heeft de volgende waarden:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Jan. 7	560	32	200	461
„ 8	375	68	—	—
„ 9	510	137	220	898
„ 10	400	39	52	28
„ 11	540	26	—	—
„ 12	480	104	238	659
„ 14	245	10	420	183
„ 15	440	20	220	687
„ 16	410	4	230	325
„ 17	620	5	218	290
„ 18	350	1	248	571
„ 19	220	10	220	289
In 12 dagen	5150	456	2266	4391
Per dag	430	38	189	366

De patient scheidt dus uit met de urine per dag 38 mG. en met de faeces 366 mG. urobiline, dat is samen 404 mG. urobiline. Hij verbruikt dus 2½ maal zooveel bloed als een normaal persoon.

De index van bloedafbraak is niet weer te geven, wijl door de groote hoeveelheid vocht in de buik en de oedemen het lichaamsgewicht niet is te bepalen.

De toestand van den patient ging vrij snel achteruit; hij werd erg suf; de pols werd klein en week. De temperatuur schommelde om de 37° heen. Den 29 Januari ging hij weer stijgen en kwam den 31sten boven de 39°. Dien dag overleed de patient.

Aan het sectieverslag ontleenen we het volgende:

Lever is klein en fijnkorrelig; rand is scherp; galblaas steekt 2 vingerbreed onder den leverrand uit. Het oppervlak is geheel diffuus bedekt met enorm veel graankorrel- tot erwt-groote knobbeltjes, welke grauwgeel en andere weer geelrood tot blauwrood van kleur zijn. Er zijn geen ontstekingsverschijnselen aan het leveroppervlak te zien. Ook zijn er geen grootere knobbels te zien. Zoowel rechter als linker kwab zijn gelijk met fijne korreltjes bezaaid. Op doorsnee blijkt de lever zeer vast te zijn. Men ziet duidelijk grauwrose bindweefselschotjes loopen, welke oranjegeel

gekleurde parenchymkorrels insluiten. Gewicht lever 1100 G.

Milt is veel te groot, vorm normaal; kapsel is glad, heeft normale kleur. Geen perisplenitis. Consistentie is te vast. Op doorsnee blijven kapsel en pulpa op één niveau. De kleur van de doorsnee is blauwrood. Pulpa is niet af te strijken. Follikels en trabekels zijn goed te zien. Milt is vrij bloedrijk. Gewicht 340 G.

Microscopie van de lever.

Kapsel is sterk verdikt en vertoont zeer vele intrekkingen, van waaruit breede bindweefselschotten het leverweefsel indringen. Deze sterk verbreede en geïnfiltreerde schotten omgeven de parenchymkorrels als breede wallen en dringen op vele plaatsen in de levereilandjes door en snoeren gedeelten er van af. De bindweefselschotten bestaan uit met lymphocyten geïnfiltreerd bindweefsel, waarin duidelijk galgangwoekering te zien is en vrij sterk verwijde art-hepaticatakjes. De levercellen hebben slecht gekleurde kernen en korrelig blauw protoplasma, waarin op vele plaatsen fijn bruin pigment te zien is. De celgrootte is vrij sterk wisselend. Er zijn groote en kleine cellen naast elkaar aanwezig.

Diagnose: *cirrhosis hepatis Laënnec.*

3. G. J. H., los werkman, 32 jaar oud, is reeds van 5 Jan. 1923 tot 1 Maart 1923 in het Binnengasthuis behandeld voor een cirrhosis hepatis Hanot en komt 24 Januari 1924 weer met dezelfde klachten binnen als een jaar van te voren: opgezette buik en buikkrampen. Als hij flink loopt krijgt hij steken in de rechterzij. Zoo nu en dan jeuk in de genitaalstreek en aan de anus. Hij heeft ook nog last van hoofdpijn en duizeligheid. Verdere klachten heeft hij niet. Ontkent venerische infectie.

Status Praesens.

Goed gebouwde en goed gevoede man; ligt actief in bed, ziet licht icterisch; geen lymphklierzwellingen; geen oedemen; tong is vochtig, niet beslagen. Goed gebit. Pols is 84, regulair, aequaal, van goede vulling en spanning.

Aan hart en longen zijn geen afwijkingen te vinden. Buik is soepel, nergens drukpijnlijk; hepar steekt een paar vinger-

breed onder de ribbeboog uit; lien komt voor drie vingerbreed te voorschijn; is vast.

Pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal aanwezig. Pupillen zijn even groot, rond, reageeren prompt op licht en convergentie. Temperatuur is normaal.

Urine: bruine kleur, zure reactie, Sg. 1015; alb. —; glucose —; urobiline +; galkleurstoffen +. Reactie van Hay negatief. Deze reactie werd later positief.

Bloed op 31 Januari 1924.

erythrocyten		4.800.000
haemoglobine		80%
kleurindex		0.83
leucocyten		3300
myelocyten		1/3
metamyelocyten		1 2/3
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	16 1/3
segementkernige		36 2/3
eosinophilecellen		10
basophile leucocyten		—
monocyten		11 1/3
lymphocyten		23 2/3

Reactie van Wassermann sterk positief. Reactie van Hijmans van den Bergh: direct 3.16/200.000.

De hoeveelheid urobiline in urine en faeces bedroeg:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Jan. 31	1450	74	847	488
Febr. 1	1040	6	100	41
„ 2	2100	51	318	176
„ 4	1700	26	285	192
„ 5	2000	46	145	146
„ 6	1150	26	626	360
„ 7	1750	19	150	70
„ 8	1540	21	200	182
„ 9	1850	41	205	204
„ 12	2250	20	790	148
„ 13	2450	17	250	117
„ 14	1750	54	68	55
„ 15	2070	54	470	228
In 13 dgn.	23100	455	4454	2407
Per dag	1777	35	342	185

Deze patient scheidt dus uit met de urine 35 mG., met de faeces 185 mG. urobiline, samen 220 mG., hetgeen slechts weinig boven het maximaal normale is en overeenkomt met 224 mG. haematine. Passen we op hem, die 70 K.G. weegt en een haemoglobinegehalte heeft van 80%, de bekende berekening toe, dan blijkt, dat hij 3500 c.c. bloed heeft, dat 392 G. haemoglobine bevat en 17.5 G. haematine.

Hij verbruikt zijn bloed dus in $\frac{17.5 \text{ G.}}{224 \text{ mG.}} \times 1$ dag $= 80$ dagen.

De index van bloedafbraak is 1.75, dat dus maar weinig boven het normale is.

Patient wordt antiluetisch behandeld.

4. Mej. G. S., 19 jaar, ongehuwd, is 2 Februari 1924 in het Binnengasthuis opgenomen voor geelzucht, waaraan ze ruim 7 weken lijdende is. Daarbij was koorts opgetreden, die eerst in de avonduren aanwezig was. Die koorts kwam zonder koude rillingen. In de eerste drie weken van haar geelzien was er ook af en toe stekende pijn in de leverstreek. Tevens had ze de laatste maanden opgemerkt, dat ze magerder werd en haar buik in omvang toenam. Bepaald ziek voelde ze zich niet. Haar eetlust is goed gebleven; haar defaecatie is regelmatig, twee maal per dag; ontlasting is gebonden.

Misselijk is ze nooit; geen last van huidjeuk; alleen gauw moe. De menstruatie was het laatste jaar zeer onregelmatig en is de beide laatste maanden niet opgetreden.

Vader is gestorven aan arteriosclerosis cerebrospinalis; een zuster lijdt aan galsteenen; moeder en overige broers en zusters zijn gezond.

Status Praesens.

Mager, slap, bleekgeel, wat chetief meisje. Duidelijke icterus; geeft goed antwoord op alle vragen. Slijmvliezen iets anaemisch. Tong vochtig, beslagen, geen lymphklierzwellingen.

Pols $\pm$ 108, regulair, aequaal, van matige vulling en spanning.

De longen zijn bij percussie en auscultatie normaal. 't Hart heeft normale grootte, de tonen zijn zuiver, behalve

dat er een systolisch geruisch is aan 't ost. pulmonale benevens een versterkte 2e. pulmonaaltoon.

Buik is opgezet, links iets sterker dan rechts.

Lever reikt tot een handbreed onder den ribbeboog, is vast met scherpen rand, is glad van oppervlak en niet pijnlijk bij palpatie.

De milt reikt naar rechts tot aan de mediaanlijn, naar onder bijna tot aan de lies; 't orgaan is hard en onpijnlijk bij palpatie.

De temperatuur schommelt tusschen 37° 's morgens en 38.4° 's avonds.

De pees-, periost- en huidreflexen zijn normaal aanwezig. Pupillen zijn even groot en rond, reageeren prompt op licht en convergentie. Hoofdzenuwen functioneeren ongestoord. De urine is bruin van kleur, 't schuim is geel; reactie zuur, Sg. 1024, albumen zwak +, glucose —; galkleurstoffen +; urobiline +. Reactie van Hay positief.

De ontlasting heeft normale kleur.

Bloed op 9 Februari 1924.

erythrocyten	4.100.000
haemoglobine	70%
kleurindex	0.85
leucocyten	2400
vitaalkleurbaren	1%

Reactie van Hijmans van den Bergh direct +, 3.4/200.000.

Bloed op 29 Maart.

erythrocyten		4.500.000
haemoglobine		70%
kleurindex		0.89
leucocyten		1750
metamylocyten		$^2/_3$
staafkernige	neutrophile polynucleaire leucocyten	$37^1/_3$
segmentkernige		$26^2/_3$
eosinophile leucocyten		9
basophile leucocyten		—
monocyten		$6^2/_3$
lymphocyten		$23^2/_3$
polychromasie		+
vitaalkleurbaren		1%

Begin haemolyse der chromocyten 0.45.
Eind „ „ „ 0.35.
Reactie van Hijmans van den Bergh direct +, 2.28/200.000.
Reactie van Wassermann is negatief, die van Sachs-Georgi ook.

De urobiline-uitscheiding in dezen tijd bepaald, geeft in faeces en urine de volgende waarden:

Datum 1924	Hoeveelheid urine per dag in cM³.	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid faeces per dag in G.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.
Mrt. 27	—	—	174	200
„ 28	1500	7	220	198
„ 29	2050	8	220	198
„ 31	1500	5	315	200
Apr. 1	2300	2	255	178
„ 2	1450	3	200	91
„ 3	1800	7	460	210
In 6 dagen	10600	32	In 7 dagen 1844	1275
Per dag	1514	4½	265	182

De hoeveelheid uitgescheiden urobiline per dag is 186½ mg., dat afkomstig is van 190 mg. haematine.

De patiente weegt 50½ K.G., haar haemoglobinegehalte is 80%, zoodat ze heeft 2525 G. bloed, dat 282.8 G. haemoglobine en 12.6 G. haematine bevat.

Ze verbruikt haar bloed dus in $\frac{12.600 \text{ mG.}}{190 \text{ mG.}} \times 1$ dag = 66 dagen en is de index I = 2.

Ze verbruikt per dag een hoeveelheid bloed, overeenkomstig met 190 mg. haematine, die voor een volwassen mensch normaal is, maar ongetwijfeld te veel is voor dit magere, chetieve meisje, wat dan ook uitgedrukt wordt door den index van bloedafbraak, die twee is.

In den loop der weken, die de patiente in het ziekenhuis lag, ontwikkelden zich bij haar typische trommelstokvingers, zooals door Gilbert en Fournier in 1895 en door Hijmans van den Bergh in 1901 beschreven is als voor te komen bij Cirrhosis hepatis Hanot op jeugdigen leeftijd. Volgens de beide eersten behoort ook de zeer groote milt en de wat infantile lichaamsbouw daarbij.

Haar temperatuur schommelt steeds tusschen 37° en 38°. Zij is thans nog in behandeling.

Hier zij ook nog vermeld, dat dit het eenige geval is, waarbij in plaats van aether petroleumaether is gebruikt voor de extractie van het urobilinogeen.

Wat ons bij deze gevallen van cirrhosis hepatis opvalt, is wel de verhouding tusschen de hoeveelheid urobiline, die met de urine en die met de faeces wordt uitgescheiden. De verhouding $\frac{\text{Urine-urobiline}}{\text{Faeces-urobiline}}$ is in drie van onze vier gevallen bij cirrhosis hepatis grooter dan bij haemolytischen icterus of pernicieuse anaemie. Ter vergelijking diene de volgende tabel:

ZIEKTE	No.	Hoeveelheid urobil. in de urine in m.G.	Hoeveelheid urobil. in de faeces in mG.	U / F
haemolytische icterus	1	6.4	1081	1/170
		1.6	304.5	1/190
	2	—	917	—
		—	635	—
Pernicieuse anaemie	1	8	816	1/102
	2	4.6	237	1/50
	3	1.1	659	1/600
	4	1	583	1/583
	5	—	240	—
	6	18.5	478	1/26
	7	2.2	568	1/258
	8	10	296	1/29
Cirrhosis hepatis	1	12	171	1/14
	2	38	366	1/9
	3	35	185	1/5
	4	4.5	182	1/40

Deze wanverhouding vinden wij ook bij de bepalingen terug, die L a d a g e deed bij drie gevallen van cirrhosis hepatis. Hij vond de volgende getallen, waarbij de verhouding U/F door mij is berekend:

Dag	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.	$\frac{U}{F}$
I	187.30	156.86	1.2
III	169.25	188.72	$\frac{10}{11}$
V	169.73	177.47	$\frac{100}{104}$

Hoeveel urobiline de normale mensch met zijn urine en faeces uitscheidt, vermeldt L a d a g e niet; vermoedelijk sluit hij zich wat die getallen betreft bij S a i l l e t aan. Maar waar het hier op aankomt, is de eigenaardige verhouding die er bestaat tusschen de hoeveelheden, die met de urine en die met de faeces worden uitgescheiden.

Bij E p p i n g e r vindt men geen urine-urobilinewaarden bij cirrhosis hepatis opgeteekend.

B r u g s c h en R e t z l a f f hebben bij een geval van Cirrhosis hepatis op eenige dagen de urobilineuitscheiding gemeten in urine en faeces en vinden:

Dag	Hoeveelheid urobiline in de urine in mG.	Hoeveelheid urobiline in de faeces in mG.	$\frac{U}{F}$
21/22	50.7	57	$\frac{10}{11}$
5/26	91.4	150	$\frac{10}{16}$
27/28	38.1	31.5	1.2

Waaruit blijkt, dat zij dezelfde wanverhouding waarnemen, want volgens hen komt in normale urine geen urobiline voor of slechts in sporen.

Het is dus mogelijk, dat wij in de kleinheid van de verhouding U/F een diagnosticum bezitten bij cirrhosis hepatis.

SAMENVATTING.

Ten slotte wil ik hetgeen in de voorgaande bladzijden beschreven staat in eenige punten samenvatten:

1e. Nog altijd moeten we de enterogene theorie van de urobilinevorming als de juiste beschouwen, maar daarbij niet vergeten, dat nog een andere wijze van urobilinevorming mogelijk is, die buiten darm en lever omgaat. De proef, waarbij men 50 c.c. gehaemolyseerd bloed onder de huid spuit en dan na 7 uur reeds urobilinurie kan aantoonen, maakt dat althans zeer waarschijnlijk.

2e. Van alle thans bekende methoden voor de quantitatieve bepaling van urobiline in faeces en urine is de colorimetrische urobilinogeenbepaling van Terwen verreweg de beste. Zij is gebleken zeer eenvoudig en betrouwbaar te zijn en is geschikt zoowel voor urine als faeces. De methode van Charnas voor de bepaling in de faeces is bruikbaar, mits men haar zoo wijzigt, dat ze tot een colorimetrische werkwijze wordt. Ze staat echter achter bij die van Terwen.

3e. De normale hoeveelheid urobiline, die de mensch per dag met de urine uitscheidt, is meestal niet meetbaar en gaat 1 mG. niet te boven.

4e. De normale hoeveelheid urobiline, die de mensch per dag met de faeces uitscheidt, ligt gemiddeld bij 135 à 150 mG. en gaat de 200 mG. niet te boven.

5e. De eenige rationeele en exacte wijze om de bloedafbraak te meten is door de met urine en faeces uitgescheiden hoeveelheid urobiline te bepalen.

6e. De normale mensch verbruikt zijn bloed in 140 dagen; in pathologische omstandigheden kan zich dit proces zeer versnellen.

Onder *Index van bloedafbraak, I,* verstaan wij voortaan de snelheid, waarmee een persoon zijn bloed afbreekt, vergeleken met een normaal persoon. Noemen we die snelheid voor den normalen mensch 1, dan is hier I = 1; iemand, die voor de afbraak van zijn bloed slechts het vijfde deel van den tijd gebruikt, welke een normaal persoon daarvoor noodig heeft, heeft een index van bloedafbraak I = 5.

7e. De formule van de haemoglobinestofwisseling geeft ons een inzicht in de grootte van bloedaanmaak en-afbraak. Die formule is door ons als volgt opgesteld:

Aantal erythrocyten, haemoglobinegehalte, kleurindex, aantal vitaalkleurbare erythrocyten, reactie van Hijmans van den Bergh, hoeveelheid uitgescheiden urobiline per dag, index van bloedafbraak, waarbij de drie laatste factoren ons inlichten over de grootte van de afbraak, de vitaalkleurbaren over de grootte van den aanmaak en de drie eersten de resultante zijn van aanmaak en afbraak.

8e. Bij haemolytischen icterus en pernicieuse anaemie is een sterk vermeerderde afbraak. Om de grootte van de urobilineuitscheiding te weten, is het volstrekt onvoldoende alleen aan de urobilinurie aandacht te schenken; de gezamenlijke uitscheiding met de faeces en urine is daarvoor alleen een juiste maatstaf.

9e. Bij cirrhosis hepatis is een sterke urobilinurie, maar overschrijdt de totale hoeveelheid urobiline het normale weinig of niet. De verhouding urineurobiline tot faecesurobiline wordt voorgesteld door de breuk U/F, die bij haemolytischen icterus en pernicieuse anaemie een kleine, bij cirrhosis hepatis een veel grootere waarde heeft.

10e. Bij ongecompliceerde myelogene leukämie is geen vermeerderde urobilineuitscheiding en geen verhoogde index van bloedafbraak.

LITTERATUUR.

1. Adler. Deutsches Archiv für Klinische Medizin, Bd. 138 en 140.
2. Auché. Comptes rendus de la Société de Biologie, No. 26, 23 Juli 1909.
3. Beck. Wiener Klinische Wochenschrift, 29 Aug. 1895.
4. Beyers. Academisch Proefschrift, Utrecht 1923.
5. v. Bergmann. Volkmanns Klinische Vorträge, 190.
6. Bondi. Archiv für Verdauungskrankheiten Bd. 29, Dezember 1913.
7. Brugsch und Retzlaff. — Zeitschrift für Experimentelle Pathologie und Therapie, Band XI, 1912.
8. Brulé. Recherches sur les Ictères, 3iéme édition.
9. Charnas. Biochemisches Zeitschrift, Bd. 20, 1909, Wiener Medizinische Wochenschrift No. 28, 1913.
10. Chiray et Benda. — Société Medicale des Hopitaux de Paris, 24 Janvier 1924.
11. Chiray et Lebon. — Le Tubage duodenal, 1924.
12. Descamps. Thése de Paris, 1910.
13. Dick. Archiv für Gynaekologie, No. 23, 1884.
14. Disqué. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 2, 1879.
15. Dubin. Journal of Experimental Medicine, 198, dl. 28.
16. Engel et Kiener. — Comptes rendus de la Société de Biologie, 1887.

17. Eppinger. Wiener Medizinische Wochenschrift, No. 16, 1913.
Die hepato-lienalen Erkrankungen 1920.
18. Eppinger und Charnas. — Zeitschrift für Klinische Medizin, Bd. 78, 1913.
19. Fischer und Meyer-Betz. — Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 75, 1911.
20. Fischler. Physiologie und Pathologie der Leber, 1916.
21. C. Gerhardt. Wiener medizinische Wochenschrift, 1877.
22. D. Gerhardt. Inaugural-Dissertation, Berlin 1889;
Zeitschrift für Klinische Medizin Bd. 32, 1897.
23. Giffin, Sanford and Szlapka. — American Journal of the Medical Sciences, 1918.
24. Gilbert et Fournier. — Comptes rendus de la Société de Biologie, 1895.
25. Groszmann. Wiener Medizinische Wochenschrift, No. 52, 1912.
26. Haldane. Journal of Physiology, Vol. 25, 1900.
27. Hannema en Josselin de Jong. — Geneeskundige Bladen, 22ste reeks.
28. Hayem. Du Sang et ses altérations anatomiques 1889,
Leçons sur les maladies du Sang, 1900.
29. Hildebrandt. Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. 59, 1906.
Deutsche Medizinische Wochenschrift, No. 12, 1908.
Münchener medizinische Wochenschrift, No. 15, 1909.
30. Hooper and Whipple. — Journal of Physiology, Vol. 40, 42 en 43.
31. G. Hoppe-Seyler. — Virchow's Archiv, 1891, Bd. 124.
32. Hueck und Brehme. — Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 141, 1922.
33. Hymans van den Bergh. — Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1901.
Der Gallenfarbstoff im Blute, 1918.
34. Hymans van den Bergh en Snapper. — Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 110, 1913.

35. Jaffé. Virchow's Archiv, Bd. 47, (geciteerd).
36. Kunkel. Virchow's Archiv, Bd. 79, 1880.
37. Ladage Academisch Proefschrift, Leiden, 1899.
38. Van Laer en Masius. — Centralblatt für die medizinischen Wissenschaften, 1871, (geciteerd).
39. Mac Munn. Proceedings of the Royal Society, Bd. 31, 1881.
Journal of Physiology, Bd. 10.
40. Maly. Annales de Chemie, Bd. 163, 1872. (geciteerd).
41. Medak und Pribam. — Berliner klinische Wochenschrift, No. 27 en 28, 1915.
42. Fr. Müller. Verhandlungen des Congresses für innere Medizin; 11e Congress, 1892.
43. Nägeli. Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 1923.
44. Neubauer. Münchener medizinische Wochenschrift, 1903.
45. Oerum. Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 93, 1908.
46. Pel. Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1882.
De ziekten der lever en galwegen en der poortader, 1910.
47. Peters. Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1918 en 1919.
48. Plesch. Berliner klinische Wochenschrift, No. 23, 1907.
49. Quincke. Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 20, 1878.
Virchow's Archiv, Bd. 95, 1884.
50. Ribierre. Thèse de Paris, 1903.
51. Robertson. Archives of internal Medicine, Juni 1915.
52. Saillet. Revue de Médicine, Bd. 17, 1897.
53. Schlesinger. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1913
54. Lorrain Smith. — Transactions of the Pathological Society of London, 1900.
55. Schneider. Archives of internal Medicine, 1916 en 1917.
56. Städeler. Vierteljahrschrift der Naturforschergesellschaft, Zürich, 1863.

57. Stadelmann. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1896.
58. Steensma. Academisch Proefschrift, Amsterdam, 1918.
59. Strauss und Hahn. — Münchener medizinische Wochenschrift, No. 45, 1920.
60. Terwen. Academisch Proefschrift, Amsterdam, 1924.
61. Thomas. Inaugural-Dissertation, Freiburg, 1907.
62. Tissier. Thèse de Paris, 1889.
63. Gideon Wells Chemical Pathology.
64. Weltmann. Wiener klinische Wochenschrift, 1923.
65. Weltmann und Löwenstein. — Wiener Archiv für innere Medizin, 1923, Bd. 6.
66. Wester. Tijdschrift voor Veeartsenijkunde, 1912.
67. Widal, Abrami et Brulé. — Comptes rendus de la Société de Biologie, 1907 en 1912.
68. Wilbur and Addis. — Archives of internal Medicine, 1914.